



Bachelorarbeit

Frau
Elisabeth Majer

**Einsatz kohlenstoffbasierter
Arbeitselektroden zur
elektrodynamischen
Bestimmung medizinisch
relevanter Spezies**

Mittweida, 2012

Bachelorarbeit

Einsatz kohlenstoffbasierter Arbeitselektroden zur elektrodynamischen Bestimmung medizinisch relevanter Spezies

Autor:
Frau

Elisabeth Majer

Studiengang:
Biotechnologie/Bioinformatik

Seminargruppe:
BI09w2-B

Erstprüfer:
Prof. Dr. rer. nat. Falk Richter

Zweitprüfer:
Prof. Dr. rer. nat. Winfried Vonau

Einreichung:
Mittweida, 17.10.2012

Verteidigung/Bewertung:
Mittweida, 06.11.2012

Bibliographische Beschreibung:

Majer, Elisabeth: Einsatz kohlenstoffbasierter Arbeitselektroden zur elektrodynamischen Bestimmung medizinisch relevanter Spezies. - 2012. – 19 S. Verzeichnisse, 50 S. Inhalt, 11 S. Anhänge. Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät Mathematik/Naturwissenschaften/Informatik, Bachelorarbeit, 2012

Englischer Titel:

Application of carbon-based working electrodes for electro-dynamic determination of medically relevant species

Kurzbeschreibung:

Dopamin, ein wichtiges körpereigenes Catecholamin, findet in der klinischen Diagnostik besondere Beachtung. Als Hormon und Neurotransmitter ist der Catecholamineinfluss auf das Herz-Kreislauf- und Nervensystem groß. Anormale Konzentrationen von Catecholaminen und deren Abbauprodukten im Urin und Plasma können als Indikator für Kreislauf-, Nervenkrankheiten und Tumore dienen. Die quantitative und selektive Bestimmung dieser Verbindungsklasse wird deshalb in der klinischen Forschung und Analytik intensiv untersucht.

In dieser Arbeit wurden Graphit-Dickschicht-Elektroden und pyrolytische Kohlenstoff-Elektroden als Arbeitselektroden zum quantitativen Nachweis des Dopamins und seines Abbauprodukts, die Homovanillinsäure, ohne und mit Anwesenheit hoher Konzentrationen von Ascorbinsäure und Harnsäure eingesetzt. Die Selektivität und Sensitivität der Graphit-Dickschicht-Elektroden konnte durch elektrochemisches Abscheiden von Poly-3,4-Ethylendioxy-thiophen- und Polyserotonin-Polymerfilmen sowie Gold-Nanopartikeln wesentlich erhöht werden. Für die Untersuchungen wurden die elektrodynamischen Messmethoden Cyclovoltammetrie und Square-Wave-Voltammetrie genutzt. Die erzielten Messergebnisse an den verschiedenen Elektroden wurden auf ihre Sensitivität und Selektivität für Dopamin und Homovanillinsäure verglichen und bewertet.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Falk Richter möchte ich dafür danken, dass er mir die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit gegeben hat und für diese die Betreuung übernommen hat.

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. Winfried Vonau für die Bereitstellung des interessanten Themas und für die umfassende fachliche Beratung bedanken.

Vor allem Frau Dipl.-Chem. Monika Berthold danke ich für die Heranführung an den Themenbereich, die intensive fachliche und persönliche Betreuung und besonders für die Unterstützung während der Anfertigung der Arbeit.

Ich möchte mich herzlichst bei Frau Dipl.-Päd. Johanna Riedel für die freundliche Zusammenarbeit und die wertvollen Hinweise sowie für die gewährte Unterstützung und das fleißige Korrekturlesen bei der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Für die Herstellung und Kontaktierung der Elektroden möchte ich Herrn Thomas Lamz und Herrn Thomas Kretschmar danken. Mein Dank für die Glasarbeiten und Reparaturen gilt Herrn Dieter Postelt. Desweiteren danke ich allen Mitarbeitern des Kurt-Schwabe-Institutes für das nette und freundliche Arbeitsklima.

Besonderer Dank gilt meinem Freund Bastian Strätz, der immer da war, wenn ich ihn brauchte und immer an mich geglaubt hat. Auch meiner Familie möchte ich für die Unterstützung danken, die sie mir entgegen gebracht hat.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	IX
Symbolverzeichnis	X
1 Einleitung und Zielstellung	1
2 Theoretischer Teil	3
2.1 Experimentelle Methoden	3
2.1.1 Voltammetrie	3
2.1.2 Chronocoulometrie	5
2.2 Bioaktive Stoffe	6
2.2.1 Dopamin und Homovanillinsäure	6
2.2.3 Ascorbinsäure	7
2.2.4 Harnsäure	7
2.2.5 Elektrochemisches Verhalten der bioaktiven Stoffe	8
2.3 Modifizierungen von Elektroden	9
2.3.1 Poly-3,4-Ethylendioxythiophen	9
2.3.2 Polyserotonin	10
2.3.2 Gold-Nanopartikel	11
3 Experimenteller Teil	12
3.1 Chemikalien und Lösungen	12
3.2 Arbeitselektroden	12
3.3 Oberflächenmodifizierung der Graphit-Dickschicht-Elektroden	14
3.4 Messaufbau	14
3.5 Elektrochemische Messungen	15
3.6 Auswertung der Messkurven	16
3.6.1 CV-Messungen	16
3.6.2 SWV-Messungen	17
4 Ergebnisse und Diskussion	18
4.1 Graphit-Dickschicht-Elektroden (SPCE)	18

4.1.1 Einfluss des pH-Wertes auf die Messungen an SPCE.....	18
4.1.2 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an SPCE	20
4.2 Pyrolytische Kohlenstoff-Elektroden (PyCE).....	23
4.2.1 Einfluss des pH-Wertes auf die Messungen an PyCE	23
4.2.2 Bestimmung von DA und HVA im Modellanalyten an PyCE	24
4.2.3 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an PyCE.....	25
4.3 PEDOT-modifizierte SPCE	26
4.3.1 Abscheidung der PEDOT-Schicht auf SPCE	26
4.3.2 Einfluss des pH-Wertes auf die Messungen an PEDOT-SPCE	27
4.3.3 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an PEDOT-SPCE	29
4.4 Au-PEDOT-modifizierte Elektroden	31
4.4.1 Gold-Nanopartikel-Abscheidung an PEDOT-SPCE	32
4.4.2 Einfluss des pH-Wertes auf die Messung an Au-PEDOT-SPCE.....	33
4.4.3 Bestimmung von Dopamin an Au-PEDOT-SPCE	34
4.4.4 Bestimmung von HVA an Au _{1,0} -PEDOT-SPCE	35
4.5 Polyserotonin-modifizierte Elektroden	37
4.5.1 5-HT-SPCE	37
4.5.2 5-HT-PEDOT-SPCE.....	42
8 Zusammenfassung und Ausblick	48
Literaturverzeichnis	XII
Anhang.....	A-1
Selbstständigkeitserklärung	

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Potential-Zeit-Verlauf bei der cyclischen Voltammetrie (links), bearbeitet nach [15] und cyclisches Voltammogramm einer reversiblen Redoxreaktion (rechts), bearbeitet nach [16].....	3
Abb. 2: Potential-Zeit-Verlauf bei der Square-Wave-Voltammetrie (links) und Square-Wave-Voltammogramm (rechts), bearbeitet nach [24].....	5
Abb. 3: Strukturformel von Dopamin.....	6
Abb. 4: Strukturformel von Homovanillinsäure.....	6
Abb. 5: Strukturformel von L-Ascorbinsäure.....	7
Abb. 6: Tautomere Formen der Harnsäure.....	7
Abb. 7: Mechanismus der Oxidation von Dopamin [39]	8
Abb. 8: Reaktionsmechanismus der Oxidation von Homovanillinsäure und Bildung des reversiblen Redoxpaares 4-Aceto-o-chinon/DOPAC [44]	8
Abb. 9: Oxidation von Ascorbinsäure (oben) und Harnsäure (unten) mit anschließender irreversibler Addition von Wasser[45]	9
Abb. 10: Strukturformel von EDOT (links) und vereinfachter Kettenausschnitt von PEDOT (rechts) [52].....	10
Abb. 11: Strukturformel von Serotonin.....	10
Abb. 12: Elektrochemische Oxidation von Serotonin [56]	11
Abb. 13: Herstellungsprozess der Graphit-Dickschicht-Elektroden (links) [62] und Graphit-Dickschicht-Elektrode (rechts, unten) sowie pyrolytische Kohlenstoff-Elektrode (rechts, oben)	13
Abb. 14: Messplatz für die elektrochemischen Experimente mit dem Potentiostat/Galvanostat PalmSens und der Messzelle [64].....	15
Abb. 15: Messzelle in Drei-Elektroden-Anordnung mit Arbeitselektrode (AE), SSE-Referenzelektrode (RE) und Pt-Blech-Gegenelektrode (GE).....	15
Abb. 16: Bestimmung der Peakströme eines Cyclovoltammogramms	17
Abb. 17: Square-Wave-Voltammogramme verschiedener HVA-Konzentrationen an PEDOT-SPCE (links) und Bestimmung der Peakströme nach Differenzbildung mit der Referenzmessung in 0,1 M PhP (rechts).....	17
Abb. 18: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer SPCE mit Kalibrierungskurve	21
Abb. 19: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer SPCE mit Kalibrierungskurven	22

Abb. 20: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer SPCE und Kalibrierungskurven	22
Abb. 21: Square-Wave-Voltammogramme von je 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer PyCE bei pH-Werten von 7 (links) und 3 (rechts)	23
Abb. 22: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 7 an einer PyCE (links) und für verschiedene HVA-Konzentrationen bei pH 3 (rechts)	24
Abb. 23: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer PyCE (links) und Kalibrierungskurven (rechts) ..	25
Abb. 24: Square-Wave-Voltammogramm für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer PyCE (links) und Kalibrierungskurven (rechts) ..	26
Abb. 25: Cyclovoltammogramme von einer Graphit-Dickschicht-Elektrode vor und nach der PEDOT-Modifizierung mit einer Ladungsmenge von 4 mC in 0,1 M PhP (pH7)	27
Abb. 26: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer PEDOT-SPCE mit Peakausschnitt und Kalibrierungskurve	30
Abb. 27: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurve	30
Abb. 28: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven	31
Abb. 29: Cyclovoltammetrische Abscheidung von Gold-Nanopartikeln an PEDOT-SPCE aus einer 0,5 mM HAuCl ₄ -Lösung (links) und Reduktionspeaks der Gold-Ionen (rechts)	32
Abb. 30: Cyclovoltammetrische Abscheidung von Gold-Nanopartikeln an PEDOT-SPCE aus einer 1,0 mM HAuCl ₄ -Lösung (links) und Reduktionspeaks der Gold-Ionen (rechts)	32
Abb. 31: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer Au _{1,0} -PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven ...	34
Abb. 32: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer Au _{0,5} -PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurve	35
Abb. 33: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer Au _{1,0} -PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven	36

Abb. 34: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer Au _{1,0} -PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven	37
Abb. 35: Abscheidung eines Polyserotonin-Films auf eine SPCE aus einer gepufferten 0,5 mM Serotonin-Lösung mittels SWV	38
Abb. 36: SWV der SPCE vor und nach der Beschichtung mit einem Serotonin-Polymerfilm (links) und Vergleich der SWV in PhP-Lösungen unterschiedlicher pH-Werte (rechts)	38
Abb. 37: SWV verschiedener AA-Konzentrationen an 5-HT-SPCE (links) und SPCE (rechts)	39
Abb. 38: SWV verschiedener UA-Konzentrationen an 5-HT-SPCE (links) und SPCE (rechts)	39
Abb. 39: SWV von je 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer 5-HT-SPCE bei pH 7	40
Abb. 40: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 7 an einer 5-HT-SPCE mit Kalibrierungskurven	41
Abb. 41: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer 5-HT-SPCE mit Kalibrierungskurven	42
Abb. 42: Ausgewählte Scans der Modifizierung einer PEDOT-SPCE mit einem Polyserotonin-Film durch SWV	42
Abb. 43: SWV der PEDOT-SPCE vor und nach der Beschichtung mit einem Serotonin-Polymerfilm (links) und Vergleich der SWV in PhP-Lösungen unterschiedlicher pH-Werte (rechts)	43
Abb. 44: SW-Voltammogramme in 0,1 M PhP (pH 7) verschiedener AA- und UA-Konzentrationen an 5-HT-PEDOT-SPCE (links) und PEDOT-SPCE (rechts)	44
Abb. 45: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 7 an einer 5-HT-PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurve	45
Abb. 46: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer 5-HT-PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven	46
Abb. 47: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer 5-HT-PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven	47
Abb. 48: CV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); CV des	

Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)	A-2
Abb. 49: SWV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); SWV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)	A-2
Abb. 50: CV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); CV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)	A-3
Abb. 51: SWV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); SWV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA oder UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)	A-3
Abb. 52: CV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer Au _{1,0} -PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); CV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)	A-4
Abb. 53: SWV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer Au _{1,0} -PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); SWV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)	A-4
Abb. 54: Abscheidung eines Polyserotonin-Films auf eine PEDOT-SPCE aus einer gepufferten 0,5 mM Serotonin-Lösung durch SWV; oben links: 1. bis 7. Scan, oben rechts: 8. bis 17. Scan, unten; 18. bis 30. Scan	A-5

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Potentialmessbereiche der verwendeten Arbeitselektroden bei SWV-Messungen	16
Tab. 2: Peakpotentiale und Peakströme aus Cyclovoltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer SPCE	19
Tab. 3: Peakpotentiale und Peakströme aus SW-Voltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer SPCE	20
Tab. 4: Peakpotentiale und Peakströme von je 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer PyCE	24
Tab. 5: Peakpotentiale und Peakströme aus Cyclovoltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer PEDOT-SPCE	28
Tab. 6: Peakpotentiale und Peakströme aus Square-Wave-Voltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer PEDOT-SPCE	29
Tab. 7: Peakpotentiale und Peakströme aus Cyclovoltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer Au _{1,0} -PEDOT-SPCE	33
Tab. 8: Peakpotentiale und Peakströme aus Square-Wave-Voltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer Au _{1,0} -PEDOT-SPCE	34
Tab. 9: Vergleich der Peakströme verschiedener AA- und UA-Konzentrationen an 5-HT-SPCE und SPCE	40
Tab. 10: Peakpotentiale und Peakströme von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer 5-HT-SPCE bei pH 7 ..	40
Tab. 11: Vergleich der Peakströme verschiedener UA-Konzentrationen an 5-HT-PEDOT-SPCE und PEDOT-SPCE	44
Tab. 12: Referenzwerte für DA, HVA, AA und UA in 24-Stunden-Sammelurin für Erwachsene [7, 32, 36, 69]	A-1
Tab. 13: Übersicht der verwendeten Chemikalien	A-1
Tab. 14: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an SPCE in PhP (pH 7) (E _{pa} = 194 mV)	A-5

Tab. 15: Messwerte der Kalibrierungskurven der HVA-Messung an SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa1} = 439 \text{ mV}$, $E_{pa2} = 699 \text{ mV}$).....	A-5
Tab. 16: Messwerte der Kalibrierungskurven der HVA-Messung an SPCE im Modellanalyt (pH 3) ($E_{pa1} = 456 \text{ mV}$, $E_{pa2} = 708 \text{ mV}$)	A-6
Tab. 17: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an PyCE in PhP (pH 7) ($E_{pa} = 191 \text{ mV}$)	A-6
Tab. 18: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an PyCE in PhP (pH 3) ($E_{pa1} = 438 \text{ mV}$, $E_{pa2} = 750 \text{ mV}$).....	A-7
Tab. 19: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 7) ($E_{pa} = 175 \text{ mV}$).....	A-7
Tab. 20: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an PEDOT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa} = 441 \text{ mV}$).....	A-7
Tab. 21: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 3) ($E_{pa} = 442 \text{ mV}$).....	A-8
Tab. 22: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE in PhP (pH 7) ($E_{pa} = 177 \text{ mV}$)	A-8
Tab. 23: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an $\text{Au}_{0,5}$ -PEDOT-SPCE in PhP (pH 7) ($E_{pa} = 177 \text{ mV}$)	A-9
Tab. 24: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa} = 405 \text{ mV}$).....	A-9
Tab. 25: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 3) ($E_{pa} = 422 \text{ mV}$)	A-9
Tab. 26: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an 5-HT-SPCE im Modellanalyt (pH 7) ($E_{pa} = 203 \text{ mV}$).....	A-9
Tab. 27: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an 5-HT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa1} = 443 \text{ mV}$, $E_{pa2} = 686 \text{ mV}$)	A-10
Tab. 28: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an 5-HT-PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 7) ($E_{pa} = 195 \text{ mV}$)	A-10
Tab. 29: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an 5-HT-PEDOT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa} = 449 \text{ mV}$).....	A-11
Tab. 30: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an 5-HT-PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 3) ($E_{pa} = 453 \text{ mV}$)	A-11

Abkürzungsverzeichnis

5-HT	Serotonin
AA	Ascorbinsäure
AE	Arbeitselektrode
CC	Chronocoulometrie
CV	cyclische Voltammetrie
DA	Dopamin
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure
HVA	Homovanillinsäure
EDOT	3,4-Ethylendioxythiophen
GE	Gegenelektrode
Ox	oxidierte Spezies
PEDOT	Poly-3,4-Ethylendioxythiophen
PhP	Phosphatpuffer
PyCE	pyrolytische Kohlenstoff-Elektrode (engl. pyrotytic carbon electrode)
RE	Referenzelektrode
Red	reduzierte Spezies
SPCE	Graphit-Dickschicht-Elektrode (engl. screen printed carbon electrode)
SSE	gesättigte Silber-Silberchlorid-Elektrode
SWV	Square-Wave-Voltammetrie
UA	Harnsäure
ZNS	zentrales Nervensystem

Symbolverzeichnis

A	Elektrodenoberfläche
c	Stoffmengenkonzentration
c^0	Ausgangskonzentration des umgesetzten Stoffs
D	Diffusionskonstante
E	Potential
E^0	Standardelektrodenpotential
E_p	Peakpotential
E_{pa}	anodisches Peakpotential
E_{pc}	kathodisches Peakpotential
E_{puls}	Pulsamplitude (Puls-Potential)
E_s	Startpotential
E_{step}	Step-Potential
E_u	Umkehrpotential
f	Frequenz
F	Faraday-Konstante ($96485,3365 \text{ C mol}^{-1}$)
I	Stromstärke
I_p	Peakstrom
I_{pa}	anodischer Peakstrom
I_{pc}	kathodischer Peakstrom
pK_a	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstante
Q	Ladung
Q_{ges}	Gesamtladung
Q_{diff}	Ladung der diffundierenden Substanz
Q_{ads}	Ladung der adsorbierten Substanz
Q_{dl}	Doppelschichtladung
R	universelle molare Gaskonstante ($8,3144621 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)

R^2	Bestimmtheitsmaß
t	Zeit
t_{puls}	Dauer eines Pulses
t_{step}	Dauer eines Steps
T	absolute Temperatur
v	Scanrate
z	Anzahl der übertragenen Elektronen

1 Einleitung und Zielstellung

Die lebensnotwendige Informationsübertragung im menschlichen Körper erfolgt über das Nerven- und Hormonsystem. Dabei spielen vor allem die körpereigenen Catecholamine eine zentrale Rolle. Als Hormone des Nebennierenmarks sind hier vor allem das Dopamin, das Adrenalin und das Noradrenalin zu nennen, die sich biogenetisch von Tyrosin ableiten. In den chromaffinen Zellen des sympathischen Nervensystems und des Hirnstammgebietes konnten Biosynthesen der Catecholamine nachgewiesen werden. Sie fungieren hier als Neurotransmitter [1, 2]. Die medizinisch relevanten Abbauprodukte des Catecholaminmetabolismus sind Homovanillinsäure und Vanillinmandelsäure [3].

Die selektive und quantitative Bestimmung von Catecholaminen und ihrer Abbauprodukte hat eine große Bedeutung in der humanmedizinischen Diagnostik. Anormale Konzentrationen an Catecholaminen können ein Indikator für eine Vielzahl von Krankheiten wie Depressionen, Schizophrenie, Aufmerksamkeitsdefizit/ Hyperaktivitätsstörung (ADHS) oder Morbus Parkinson sein. Ursache beispielsweise der Parkinsonschen Krankheit ist eine Degeneration der dopaminergen Neuronen in der Substantia nigra. Dadurch kommt es zu einer verminderten Synthese von Dopamin. Im Urin wird ein verringerter Gehalt an Dopamin und Homovanillinsäure festgestellt [1, 4].

Catecholamine und ihre Metabolite dienen unter anderem als Marker für Phäochromozytome und Neuroblastome [3, 5, 6]. Phäochromozytome sind Tumore der chromaffinen Zellen, die Catecholamine produzieren. Sie befinden sich hauptsächlich in den Nebennieren und in den Fasern des sympathischen Nervensystems [1, 7]. Es kommt zu einer vermehrten Ausscheidung von Catecholaminen und deren Abbauprodukten [1, 3].

Die Catecholamine und ihre Metabolite können sowohl im Urin als auch im Plasma klinisch nachgewiesen werden. Die Bestimmung im Harn erfolgt in angesäuerten 24-Stunden-Sammelurin, da es tageszeitliche Schwankungen in der Catecholamin-Ausscheidung gibt. Der Nachweis im Blutplasma ist eine sensitivere diagnostische Methode. Allerdings sind die Anforderungen an eine korrekte Blutentnahme für die Analyse in EDTA-Plasma sehr hoch. Zudem spiegelt diese Methode die tageszeitlichen Schwankungen nicht wider. Daher erfolgt die Bestimmung der Catecholamine hauptsächlich im Sammelurin [3, 6].

Für die quantitative Bestimmung der Catecholamine und ihrer Metabolite werden chromatographische Trennverfahren wie die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) angewandt [3]. Wegen der leichten Oxidierbarkeit der Catecholamine eignen sich auch voltammetrische Messmethoden [8]. Die Vorteile dieser dynamischen

elektrochemischen Untersuchungen gegenüber anderen instrumentell-analytischen Methoden bestehen in der leichten Bedienung der automatisierten Geräte, vergleichsweise geringen Kosten und das Arbeiten in einem relativ breiten Konzentrationsbereich (10^{-3} mol/L bis 10^{-12} mol/L) [9].

Ziel dieser Arbeit ist es, das Catecholamin Dopamin (DA) und sein Hauptabbauprodukt, die Homovanillinsäure (HVA) in Anwesenheit von Harnsäure (UA) und Ascorbinsäure (AA), die in großen Mengen im Urin vorhanden sind, zu bestimmen. Die Normwerte der zu untersuchenden Stoffe sind in Tab. 12 im Anhang aufgeführt.

In dieser Arbeit wurden Arbeitselektroden auf Kohlenstoffbasis – Graphit-Dickschicht-Elektroden (SPCE) und pyrolytische Kohlenstoffelektroden (PyCE) – verwendet, weil sie in einem weiten Potentialbereich einsetzbar sind, keine Toxizität aufweisen und sowohl in wässrigen als auch in organischen Lösungsmitteln eingesetzt werden können [10].

Um die Sensitivität und Selektivität der Elektroden zu erhöhen, wurden die Graphit-Dickschicht-Elektroden mit verschiedenen Substanzen elektrochemisch modifiziert. Als dafür gut geeignet beschreibt *Tran* die PEDOT- bzw. PEDOT-Goldnanopartikel-Modifizierungen [11]. Die leitenden Polymerfilme aus den Monomeren von 3,4-Ethylendioxythiophen (EDOT) wurden durch elektrochemische Polymerisation auf die Elektrodenoberflächen aufgebracht. Zusätzlich konnten Gold-Nanopartikel cyclovoltammetrisch auf die PEDOT-Schichten abgeschieden werden. Durch die Modifizierung der SPCE und PEDOT-SPCE mit Polyserotoninfilmern konnten weitere sensitive Elektroden zur Untersuchung der bioaktiven Stoffe eingesetzt werden. Die Prinzipien der Modifizierung sind im nachfolgenden Kapitel näher erläutert.

Zur Bestimmung der medizinisch relevanten Spezies Dopamin und Homovanillinsäure wurden die elektrochemischen Messmethoden Cyclovoltammetrie und Square-Wave-Voltammetrie eingesetzt.

2 Theoretischer Teil

2.1 Experimentelle Methoden

2.1.1 Voltammetrie

Voltammetrische Verfahren werden genutzt, wenn an stromdurchflossenen Elektroden redoxaktive Spezies elektrochemisch umgesetzt werden. Dabei können durch die Strom-Spannungs-Messungen wichtige quantitative und qualitative Aussagen über den Elektrolyten abgeleitet werden [12]. Die verschiedenen voltammetrischen Techniken, wie die cyclische Voltammetrie und die Square-Wave-Voltammetrie, unterscheiden sich hauptsächlich darin, wie das Potential an die Arbeitselektrode angelegt wird. Meist wird eine Drei-Elektroden-Anordnung mit Arbeitselektrode, Referenzelektrode und Gegenelektrode verwendet [13].

2.1.1.1 Cyclische Voltammetrie

Eine cyclovoltammetrische Messung beginnt bei dem Startpotential E_s , bei dem die zu untersuchende Substanz möglichst nicht elektroaktiv sein sollte. Anschließend wird das Potential E mit konstanter Scanrate v

$$v = \frac{dE}{dt} = \text{konst.} \quad (1)$$

bis zum Erreichen des Umkehrpotentials E_u verändert. Die Richtung des Scans wird dort umgekehrt und das Potential E bis zum Startpotential E_s , wieder linear variiert. Dieser Vorgang entspricht einem Cyclus und ist in Abb. 1, links dargestellt [14].

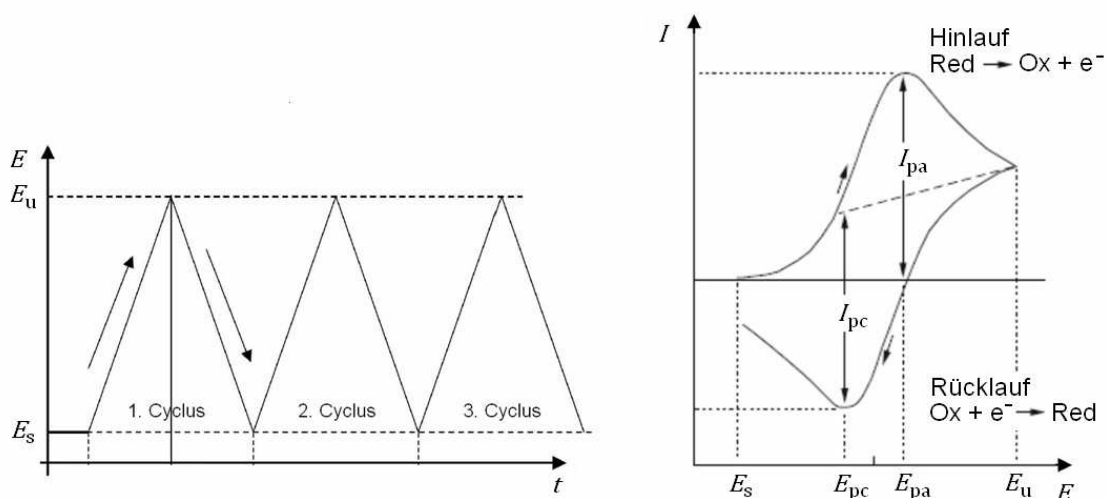


Abb. 1: Potential-Zeit-Verlauf bei der cyclischen Voltammetrie (links), bearbeitet nach [15] und cyclisches Voltammogramm einer reversiblen Redoxreaktion (rechts), bearbeitet nach [16]

Der Stromverlauf eines cyclischen Voltammogramms für eine einfache Redoxreaktion



mit reversiblen Elektronentransfer und Ein-Elektronen-Übergang ($z = 1$) ist in Abb. 1, rechts dargestellt, wobei Red die reduzierte und Ox die oxidierte Spezies ist.

Beim Startpotential E_s fließt noch kein Strom. Wenn beim anodischen Hinlauf Potentiale erreicht werden, an denen die Substanz Red oxidiert werden kann und es an der Elektrodenoberfläche zu einem Elektronentransfer kommt, fließt ein Strom. An der Phasengrenze sinkt die Konzentration von Red entsprechend der NERNSTschen Gleichung

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{c(\text{Ox})}{c(\text{Red})} \quad (3)$$

und die Konzentration von Ox steigt an. In ruhender Lösung kommt es durch Diffusion zum Antransport von Red an die Elektrode und zum Abtransport von Ox in die Lösung. Die Diffusionsschicht wächst im Laufe der Zeit an. Dadurch verarmt der Elektrolyt an der Elektrodenoberfläche und der Strom sinkt wieder, es bildet sich ein Strompeak aus. Nach Überschreiten von E_u entsteht im Rücklauf analog für die Reduktion ein zweiter Strompeak [16, 17, 18].

Für einen reversiblen Elektronentransfer gilt [16, 19, 20, 21]:

- das anodische Peakpotential E_{pa} und das kathodische Peakpotential E_{pc} sind unabhängig von v
- der anodische Peakstrom I_{pa} und der kathodische Peakstrom I_{pc} sind nach der RANDLES-SEVCIK-Gleichung

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 n^{3/2} D^{1/2} c^0 v^{1/2} \quad (4)$$

proportional zu $v^{1/2}$

- die Differenz der Peakpotentiale ΔE_p beträgt für einen Ein-Elektronen-Übergang 59 mV und ist unabhängig von v :

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 59 \text{ mV} \quad (5)$$

- das Verhältnis der Peakströme $|I_{pa}/I_{pc}|$ ist 1 und unabhängig von v :

$$\left| \frac{I_{pa}}{I_{pc}} \right| = 1 \quad (6)$$

Die cyclische Voltammetrie findet Anwendung bei der Aufklärung von Elektrodenreaktionsmechanismen und bei der Bestimmung der Elektrodenoberfläche, der Zahl übertragener Elektronen sowie von Reaktionsparametern wie Standardpotentialen, Geschwindigkeitskonstanten usw. [20].

2.1.1.2 Square-Wave Voltammetrie

Square-Wave-Voltammetrie (SWV) ist eine differentielle Puls-Technik. An der Arbeitselektrode wird eine Spannungsrampe aufgetragen, die mit einer rechteckförmigen Wechsellspannung überlagert ist (Abb. 2, links) [22].

Der Strom wird zweimal während jedem Square-Wave-Cyclus gemessen, um den Einfluss von Kapazitätsströmen zu minimieren. Einmal am Ende des Vorwärts-Pulses und einmal am Ende des Rückwärts-Pulses. Die Differenz der beiden Messungen wird gegen das Potential aufgetragen [22, 23]. In Abb. 2, rechts ist ein einfaches Square-Wave-Voltammogramm eines oxidativen Scans dargestellt.

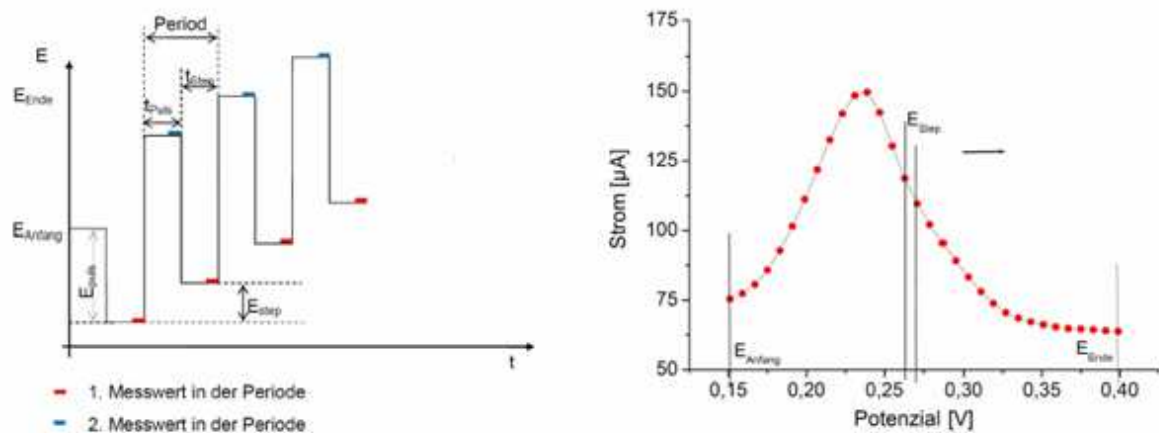


Abb. 2: Potential-Zeit-Verlauf bei der Square-Wave-Voltammetrie (links) und Square-Wave-Voltammogramm (rechts), bearbeitet nach [24]

Die Square-Wave-Voltammetrie zeichnet sich durch ein großes Auflösungsvermögen und eine hohe Empfindlichkeit aus. Detektionsgrenzen von bis zu 10^{-8} M können erreicht werden [22, 23].

2.1.2 Chronocoulometrie

Chronocoulometrie (CC) ist eine elektroanalytische Technik, bei der die Ladung während eines stationär durchgeführten Experiments als Funktion der Zeit aufgetragen wird. Es können mehrere Potentialschritte gekoppelt werden. Durch Integration des Stromes I über die Zeit t erhält man die geflossene Ladung Q [25]:

$$Q(t) = \int_0^t I(t) dt \quad (7)$$

Die in einem chronocoulometrischen Experiment gemessene Gesamtladung Q_{ges} besteht aus der Doppelschichtladung Q_{dl} , der Ladung aus der Elektrolyse der adsorbierten Substanz Q_{ads} und der Ladung aus der Elektrolyse in Lösung befindlicher Substanz Q_{diff} [26]:

$$Q_{\text{ges}}(t) = Q_{\text{diff}} + Q_{\text{dl}} + Q_{\text{ads}} \quad (8)$$

Bei der Chronocoulometrie als stationäre Technik wird nur der Teil des Substrats umgesetzt, der sich in der Diffusionsschicht befindet, die Konzentration im Inneren der Lösung ändert sich praktisch nicht [25].

Durch Integration der COTRELL-Gleichung erhält man [25]:

$$Q_{\text{diff}}(t) = \frac{2zFAD^{1/2}c^0}{\pi^{1/2}} t^{1/2} \quad (9)$$

wobei z die Anzahl der übertragenen Elektronen, F die Faraday-Konstante, A die Elektrodenoberfläche, D die Diffusionskonstante und c^0 die Ausgangskonzentration des umgesetzten Stoffes ist [25].

Die Ladungsbeiträge von Q_{dl} und Q_{ads} werden in viel kürzerer Zeit übertragen als die von Q_{diff} . Dadurch können $Q_{\text{dl}} + Q_{\text{ads}}$ und Q_{diff} getrennt voneinander bestimmt werden [25].

2.2 Bioaktive Stoffe

2.2.1 Dopamin und Homovanillinsäure

Dopamin (DA, Abb. 3), β -(3,4-Dihydroxyphenyl)-ethylamin, gehört zur Klasse der Catecholamine. Es entsteht durch Hydroxylierung von Tyrosin über die Zwischenstufe L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-Dopa), das wiederum decarboxyliert wird. Dopamin ist eine Vorstufe der Hormone Adrenalin und Noradrenalin. Im zentralen Nervensystem (ZNS) dient es als Neurotransmitter und ist an der Steuerung von emotionalen und geistigen Reaktionen beteiligt [27, 28]. Dopamin kann die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren [28].

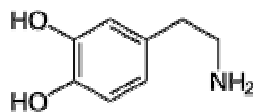


Abb. 3: Strukturformel von Dopamin

Homovanillinsäure (HVA, Abb. 4), 4-Hydroxy-3-methoxyphenylessigsäure, ist ein Abbauprodukt des Dopamins. Daher wird sie auch als Parameter für den Dopaminstoffwechsel herangezogen [29].

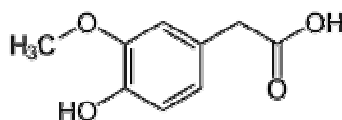


Abb. 4: Strukturformel von Homovanillinsäure

2.2.3 Ascorbinsäure

L-Ascorbinsäure (AA, Abb. 5), Vitamin C, 2,3-Didehydro-L-threo-hexano-1,4-lacton, ist ein wasserlösliches Vitamin. Sie kommt in vielen Gemüse- und Obstsorten vor. Ascorbinsäure wirkt aufgrund der Endiolstruktur stark reduzierend. Die Oxidation von L-Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure durch Ascorbat-Oxidase ist reversibel und ist damit ein biochemisches Redoxsystem. Ein Mangel an Ascorbinsäure führt zu Skorbut [30, 31].

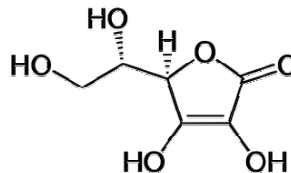


Abb. 5: Strukturformel von L-Ascorbinsäure

Ascorbinsäure ist im Organismus an Hydroxylierungsreaktionen beteiligt, die molekularen Sauerstoff erfordern, wie der Umwandlung von Dopamin in Noradrenalin und der Serotoninbiosynthese. Sie verhindert zudem die Bildung von kanzerogenen Nitrosaminen [32].

Die Ausscheidungsmenge von Ascorbinsäure beträgt zwischen 45 μmol und 570 μmol pro Tag und ist somit um ein Vielfaches höher als die der Catecholamine [33]. Sie besitzt pK_a -Werte von 4,04 und 11,4 [34].

2.2.4 Harnsäure

Harnsäure (UA), 2,6,8-Trihydroxypurin, ist ein Ausscheidungsprodukt des Purinstoffwechsels. Beim Menschen, Primaten, Vögeln und einigen Reptilien kann Harnsäure nicht weiter metabolisiert werden und ist somit das Endprodukt des Purinabbaus. Harnsäure ist ein Enol und kann in die Ketoform tautomerisieren. Die tautomeren Formen sind in Abb. 6 dargestellt. Harnsäure besitzt einen pK_a -Wert von 5,4 [35, 36].

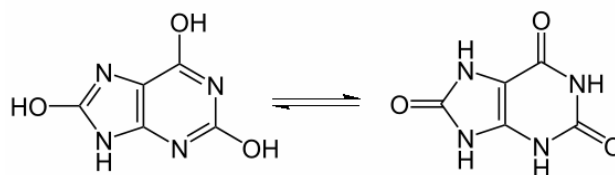


Abb. 6: Tautomere Formen der Harnsäure

Harnsäure wird hauptsächlich über die Nieren ausgeschieden [35]. Wie Ascorbinsäure ist sie in hohen Mengen im Urin gegenüber Catecholaminen enthalten (bis zu 800 mg bzw. 4,8 mmol im 24-Stunden-Sammelurin) und stört dadurch die elektrochemische Bestimmung von Catecholaminen sowie deren Abbauprodukte in diesem Medium [37].

2.2.5 Elektrochemisches Verhalten der bioaktiven Stoffe

Dopamin

Bei der Oxidation von Dopamin zu Dopamin-o-chinon werden zwei Elektronen übertragen, wie in Abb. 7 dargestellt [38].

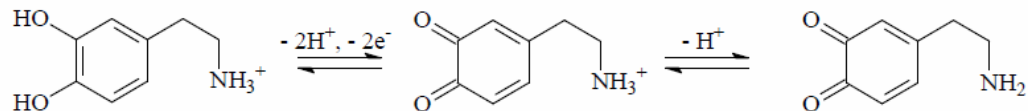


Abb. 7: Mechanismus der Oxidation von Dopamin [39]

Durch weitere Oxidation und anschließende chemische Folgeschritte kann ein Melaninpolymer auf der Elektrodenoberfläche gebildet werden, welches leitfähig ist [40, 41]. Elektroden, die mit einem Melaninpolymer beschichtet wurden, konnten zur selektiven Bestimmung von Dopamin eingesetzt werden [11, 42, 43].

Homovanillinsäure

Im ersten Schritt der Homovanillinsäure-Oxidation wird HVA (Abb. 8) vermutlich irreversibel zu 4-Aceto-o-chinon mit Addition eines H_2O -Moleküls umgesetzt. Die Reduktion des entstandenen Chinons (Abb. 8) zu DOPAC (3,4-Dihydroxyphenylethylsäure) erfolgt reversibel. In einem weiteren Oxidationsdurchlauf werden sowohl HVA als auch DOPAC oxidiert. Bei allen Reaktionsschritten werden jeweils zwei Elektronen übertragen [44].

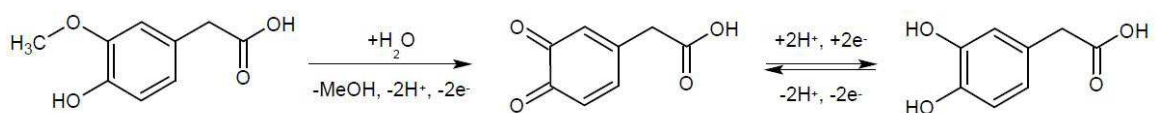


Abb. 8: Reaktionsmechanismus der Oxidation von Homovanillinsäure und Bildung des reversiblen Redoxpaares 4-Aceto-o-chinon/DOPAC [44]

Ascorbinsäure und Harnsäure

Bei der Oxidation von Ascorbinsäure und Harnsäure (Abb. 9) findet ebenfalls ein Zwei-Elektronen-Übergang statt. Nach der Oxidation erfolgt eine irreversible Addition von Wasser. Daher zeigen die Cyclovoltammogramme dieser Stoffe den typischen Kurvenverlauf einer irreversiblen Reaktion [45].

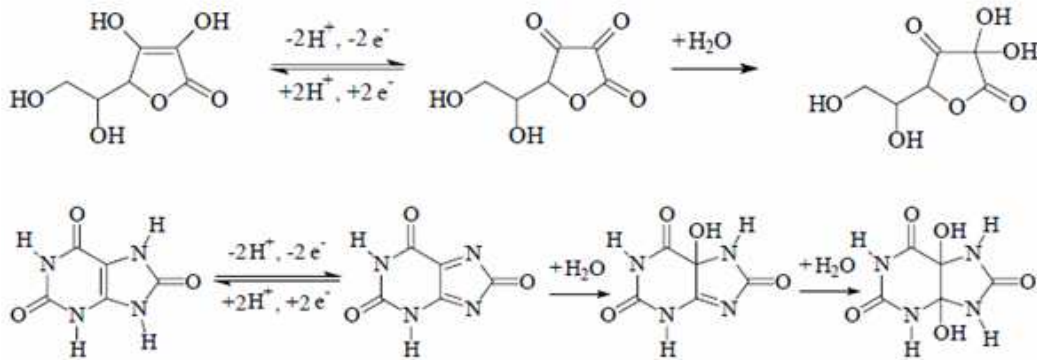


Abb. 9: Oxidation von Ascorbinsäure (oben) und Harnsäure (unten) mit anschließender irreversibler Addition von Wasser[45]

2.3 Modifizierungen von Elektroden

In biologischen Medien, wie Urin und Serum, können andere oxidierbare Verbindungen, wie Ascorbinsäure und Harnsäure, den Nachweis von Dopamin und anderen Catecholaminen stören. Zudem beeinflusst Ascorbinsäure elektrochemische Messungen von Catecholaminen, da Catecholderivate die Oxidation von Ascorbinsäure katalysieren. In Voltammogrammen wird dadurch beispielsweise der Oxidationspeakstrom erhöht und es bildet sich kein Reduktionspeak aus [46].

Um die Sensitivität der Elektroden zu erhöhen und störende Einflüsse zu verringern, können Elektroden durch verschiedene Verfahren modifiziert werden [47]:

- elektrochemische Vorbehandlung
- Physisorption/Chemisorption
- chemische Anbindung
- Polymerfilme
- anorganische Schichten

In den nachfolgenden Kapiteln wird näher auf die Modifizierung durch Polymerfilme von 3,4-Ethylendioxythiophen und Serotonin sowie die Abscheidung von Gold-Nanopartikeln eingegangen.

2.3.1 Poly-3,4-Ethylendioxythiophen

Poly-3,4-Ethylendioxythiophen (PEDOT) ist ein intrinsisch leitfähiges Polymer [48]. Diese leitfähigen Polymere besitzen konjugierte Doppelbindungen, die ein delokalisiertes π -Elektronensystem entlang der Polymerkette bilden. Durch Dotierung, also partielle Oxidation oder Reduktion eines Polymers, entstehen bewegliche positive

oder negative Ladungen in der Kette, was zu einer elektrischen Leitfähigkeit führt [49, 50].

PEDOT kann leicht elektrochemisch auf die Elektrodenoberfläche durch Oxidation seines Monomers, 3,4-Ethylendioxythiophen (EDOT), aufgebracht werden [51]. Die Strukturformel des Monomers ist in Abb. 10, links dargestellt und ein Ausschnitt des Polymers in Abb. 10, rechts.

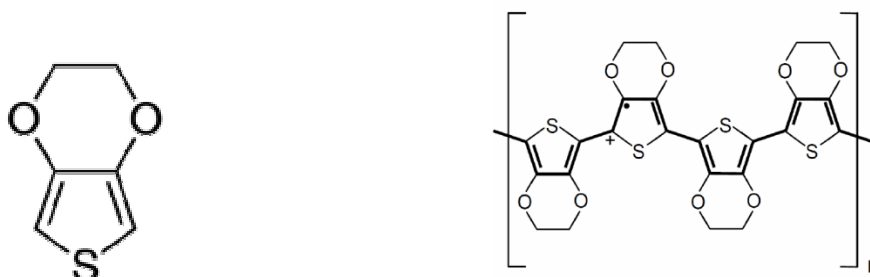


Abb. 10: Strukturformel von EDOT (links) und vereinfachter Kettenausschnitt von PEDOT (rechts) [52]

PEDOT besitzt im oxidierten Zustand eine gute Stabilität. Es kann sowohl aus wässrigen als auch aus nicht-wässrigen Medien hergestellt werden. Die Leitfähigkeit der PEDOT-Schicht ändert sich nicht signifikant mit dem Gegen-Ion [53].

Polymer-modifizierte Elektroden werden weitreichend eingesetzt, da sie mehr aktive Stellen durch kovalente Bindungen oder Adsorption besitzen als unmodifizierte Elektroden [50]. Eine selektive Bestimmung von Dopamin in Gegenwart von UA und AA konnte durch PEDOT-modifizierte Elektroden erreicht werden [51, 53].

2.3.2 Polyserotonin

Serotonin (5-HT, Abb. 11), 5-Hydroxytryptamin, ist ein biogenes Amin und eine Vorstufe des Hormons Melatonin. Es entsteht durch Hydroxylierung von L-Tryptophan zu 5-Hydroxytryptophan mit anschließender Decarboxylierung. Es wirkt als Neurotransmitter im ZNS, als Mediator des Herz-Kreislauf-Systems sowie Magen-Darm-Trakts und ruft eine Vasokonstriktion glatter Gefäßmuskulatur vor [54, 55].

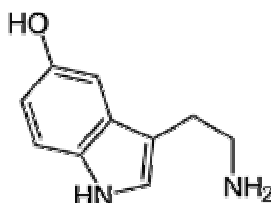


Abb. 11: Strukturformel von Serotonin

Bei der Oxidation von Serotonin wird zunächst das korrespondierende Keton unter Abgabe von zwei Elektronen gebildet (Abb. 12). Dieses Oxidationsprodukt ist instabil und reagiert weiter zu einem Produkt, das leicht oxidierbar ist [56].

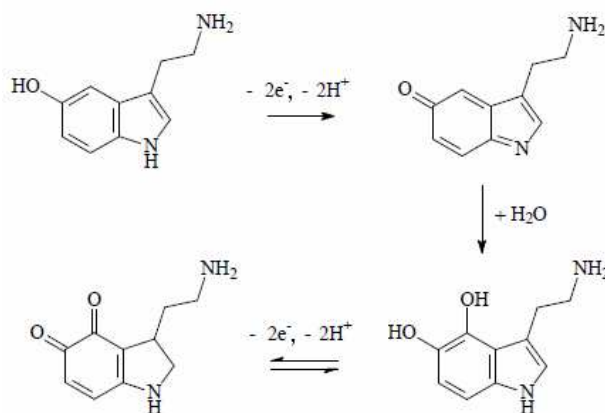


Abb. 12: Elektrochemische Oxidation von Serotonin [56]

Es wird vermutet, dass sich bei einer weiteren Oxidation und anschließenden Folgereaktionen, ähnlich wie bei der Dopamin-Oxidation, ein leitender Polymerfilm auf der Arbeitselektrodenoberfläche ausbildet. Dieser kann die Sensitivität der Elektroden für bestimmte bioaktive Stoffe sowohl erhöhen (Dopamin) als auch erniedrigen (Harnsäure, Ascorbinsäure) [11].

2.3.2 Gold-Nanopartikel

Metall-Nanopartikel unterscheiden sich in ihren elektronischen, optischen und magnetischen Eigenschaften von denen in ihrer elementaren Form. Besonders Gold-Nanopartikel wurden erfolgreich für verschiedene Typen von optischen, elektrochemischen und Biosensoren verwendet. Sie besitzen eine gute Leitfähigkeit und sind biokompatibel. Viele verschiedene Materialien, wie Polymere, Kohlenstoff-Nanoröhren und Graphen, wurden als Substrate verwendet, um Gold-Nanopartikel einzubauen [57, 58].

Durch Gold-Nanopartikel kann der Elektronentransfer erleichtert und somit die Sensitivität der Elektroden erhöht werden [58]. Mittels Gold-Graphen-Nanokomposite konnten DA, AA und UA gleichzeitig elektroanalytisch nachgewiesen werden [57 - 61].

3 Experimenteller Teil

3.1 Chemikalien und Lösungen

Die für diese Arbeit verwendeten Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, in p.A.-Qualität von den Firmen Fluka, Sigma-Aldrich, Riedel-de Haën, VEB und BTC bezogen. Eine detaillierte Liste dieser Substanzen ist im Anhang (Tab. 13) aufgeführt. Die Herstellung der Puffer- und Messlösungen erfolgte unter Verwendung von bidestilliertem Wasser ($<10^{-6} \text{ Scm}^{-1}$).

Pufferlösungen:

Die voltammetrischen Messungen wurden in 0,1 M Phosphatpuffer-Lösungen (PhP) mit pH-Werten von 7, 5 und 3 durchgeführt. Diese Grundelektrolytlösungen wurden durch Mischen von 0,1 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4^-$, 0,1 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4^-$ und 0,1 M H_3PO_4 -Stammlösungen (für pH 3) auf den jeweiligen pH-Wert eingestellt.

Analyselösungen:

Es wurden 0,5 mM Stammlösungen von DA, AA und UA sowie 0,3 g/L Lösungen von HVA in 0,1 M PhP mit den entsprechenden pH-Werten hergestellt. Die dazu verwendeten PhP-Lösungen wurden zuvor mit Argon gespült. Für die Gegenüberstellungen der Substanzen bei verschiedenen pH-Werten wurden 0,1 mM Lösungen der bioaktiven Stoffe genutzt.

3.2 Arbeitselektroden

In dieser Arbeit wurden Graphit-Dickschicht-Elektroden (SPCE) und pyrolytische Kohlenstoff-Elektroden (PyCE) mit einem Durchmesser von 3 mm verwendet (Abb. 13, rechts). Die Graphit-Dickschicht-Elektroden wurden zudem mit verschiedenen Substanzen elektrochemisch modifiziert, was im Kapitel 3.3 näher beschrieben wird.

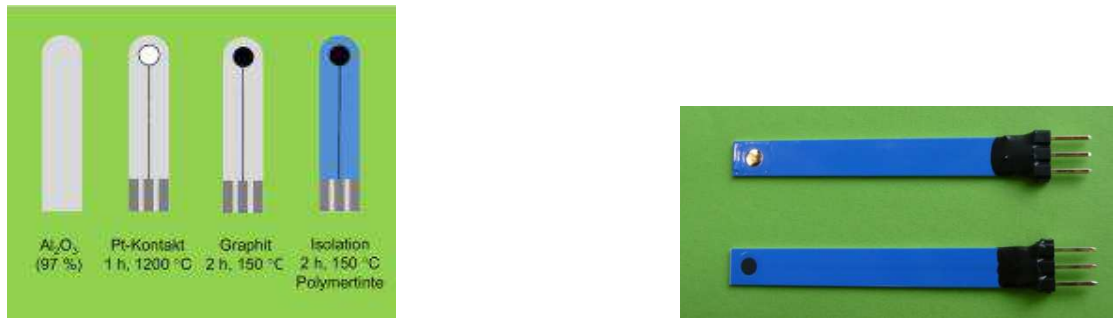


Abb. 13: Herstellungsprozess der Graphit-Dickschicht-Elektroden (links) [62] und Graphit-Dickschicht-Elektrode (rechts, unten) sowie pyrolytische Kohlenstoff-Elektrode (rechts, oben)

Die SPCE wurden im Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik e.V. hergestellt. Die dafür verwendete Graphit-Polymerpaste wurde mittels Siebdruck auf ein Keramiksubstrat (Al₂O₃) aufgebracht und mit einer Polymerabdeckung versehen. Der Herstellungsprozess ist in Abb. 13, links schematisch dargestellt.

Für die Herstellung der PyCE wurde eine Folie aus pyrolytisch abgeschiedenem Kohlenstoff mit einer Graphitpaste auf eine SPCE aufgeklebt und anschließend mit einer Polymerpaste abgedeckt. Die Schichtdicke der aufgetragenen Folie betrug etwa 15 µm.

Vorbehandlung der Arbeitselektroden:

Die Graphit-Dickschicht-Elektroden wurden vor der ersten Messung mindestens 24 Stunden in 0,1 M Phosphatpuffer-Lösungen (pH 7) gelagert, um reproduzierbare Messergebnisse zu erhalten (vgl. [63]).

Die unmodifizierten Elektroden wurden vor dem Gebrauch und der Modifizierung mit bidestilliertem Wasser abgespült und im Grundelektrolyten cyclovoltammetrisch in einem Potentialbereich von -0,5 V bis +1,35 V (15 Cyclen, $v = 50 \text{ mV/s}$) aktiviert. Anschließend wurden sie in einem Bereich von -0,1 V bis +0,8 V mit Scanraten von 20 mV/s und 50 mV/s bis zu einem stabil bleibenden Grundstrom konditioniert.

Die PEDOT- und Gold-Nanopartikel-modifizierten Elektroden wurden in einem Potentialbereich von -0,1 V bis +0,6 V in 0,1 M PhP cyclovoltammetrisch erst mit einer Scanrate von 20 mV/s und anschließend mit einer Scanrate von 50 mV/s konditioniert. Die mit Serotonin-Polymeren beschichteten Elektroden wurden ausschließlich mittels SWV ($E_{\text{step}} = 2 \text{ mV}$, $E_{\text{puls}} = 50 \text{ mV}$, $f = 5 \text{ Hz}$) in einem Potentialbereich von -0,15 bis +0,6 V im Grundelektrolyten konditioniert.

3.3 Oberflächenmodifizierung der Graphit-Dickschicht-Elektroden

PEDOT-Modifizierung:

Für die Beschichtung der Elektrodenoberfläche mit PEDOT-Polymerfilmen wurde eine wässrige Lösung aus 0,1 M EDOT, 0,1 M NaH_2PO_4 und 1,5 M Lutensit TC-CS 40 (Natriumisopropylbenzolsulfonat) genutzt. Durch den Zusatz des Tensits Lutensit konnte es erreicht werden, EDOT in 10-fach höherer Konzentration (0,1 M) wie sonst möglich in der wässrigen Phase einzusetzen [52]. Die Modifizierung mit PEDOT-Polymeren erfolgte potentiostatisch mittels Chronocoulometrie. Das Potential wurde im ersten Schritt 60 s bei 0,2 V gehalten und im zweiten Schritt erfolgte bei 1,0 V die potentiostatische Abscheidung von PEDOT bis zu einer Ladungsmenge von 4 mC.

Gold-Nanopartikel-Abscheidung:

Die Modifizierung der PEDOT-beschichteten Graphit-Dickschicht-Elektroden mit Gold-Nanopartikeln erfolgte aus 0,5 mM, 0,8 mM und 1,0 mM Tetrachlorogold(III)säure-Lösungen in 0,1 M PhP (pH 7). Zur Herstellung der dafür verwendeten Stammlösung wurde 1 g $\text{HAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (ca. 50 % Au) in 50 mL 0,1 M PhP (pH 7) gelöst. Die Abscheidung erfolgte cyclovoltammetrisch: 10 Cyclen wurden in einem Potentialbereich von 1,0 V bis -0,4 V mit einer Scanrate von 50 mV/s durchlaufen.

Polyserotonin-Beschichtung:

Für die Modifizierung der Arbeitselektrodenoberflächen mit einer Serotonin-Polymerschicht wurde eine 0,5 mM Serotonin-Lösung in 0,1 M PhP (pH 7) eingesetzt. Die Polymerfilme wurden sowohl auf Graphit-Dickschicht-Elektroden als auch auf PEDOT-beschichtete Elektroden aufgebracht. Dazu wurden die Arbeitselektroden mittels SWV in einem Potentialbereich von -0,2 V bis +0,8 V oxidiert (Frequenz: 5 Hz, $E_{\text{step}} = 2 \text{ mV}$, $E_{\text{puls}} = 50 \text{ mV}$) bis sich im Bereich von -0,2 V bis +0,2 V ein konstanter Strom eingestellt hatte (15 – 30 Scans).

3.4 Messaufbau

In dieser Arbeit wurden computergesteuerte Messsysteme mit einem Potentiostaten/Galvanostaten und einer Messzelle verwendet. Der Messaufbau für die voltammetrischen Experimente ist in Abb. 14 dargestellt.

Die voltammetrischen Messungen (CV und SWV) erfolgten an dem PalmSens Potentiostat/Galvanostat (PalmSens BV, Niederlande). Für die Abscheidungen mittels CC wurde der Gamry Series GTM Potentiostat/Galvanostat/ZRA (Gamry Instruments, USA) genutzt.

Die pH-Bestimmungen der Pufferlösungen wurden mit dem pH-Meter 746 Multi-Calimatic (Knick Elektronische Messgeräte, Deutschland) durchgeführt.

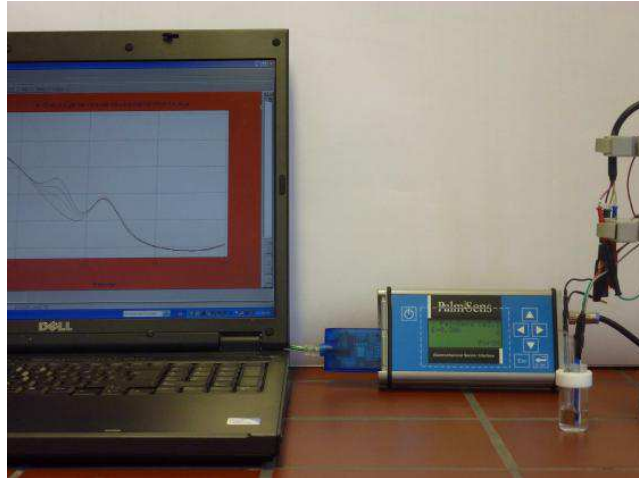


Abb. 14: Messplatz für die elektrochemischen Experimente mit dem Potentiostat/Galvanostat PalmSens und der Messzelle [64]

Für die elektrodynamischen Messungen wurde eine konventionelle Drei-Elektroden-Messanordnung (Abb. 15), bestehend aus der Arbeitselektrode, einer miniaturisierten $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{Cl}^-_{\text{ges}}$ -Elektrode (SSE) als Referenzelektrode, die über eine Luggin-Kapillare eingebunden war, und einem Platin-Blech als Gegenelektrode, genutzt. Das Messvolumen betrug 5,0 mL.

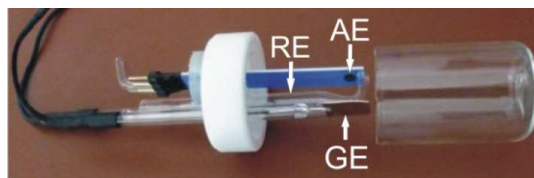


Abb. 15: Messzelle in Drei-Elektroden-Anordnung mit Arbeitselektrode (AE), SSE-Referenzelektrode (RE) und Pt-Blech-Gegenelektrode (GE)

3.5 Elektrochemische Messungen

Alle Versuche wurden bei Raumtemperatur ($23\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) und unter Abwesenheit von Sauerstoff durchgeführt. Die Lösungen wurden dazu vor jeder Messung 10 min mit Argon gespült und unter einer Ar-Atmosphäre gehalten.

Zur Untersuchung der bioaktiven Stoffe wurden cyclovoltammetrische und Square-Wave-voltammetrische Messungen durchgeführt. Die Cyclovoltammogramme wurden in einem Potentialbereich von $-0,1\text{ V}$ bis $0,8\text{ V}$ mit einer Scanrate von 50 mV/s und einem Step-Potential E_{step} von 3 mV aufgenommen. Die SWV-Messungen erfolgen mit einem E_{step} von 2 mV , einer Pulsamplitude E_{puls} von 50 mV und einer Frequenz f von 5 Hz . Die Potentialbereiche bei dieser Methode variierten je nach Elektrode und pH-

Wert der Messlösung (Tab. 1). Vor den Square-Wave-voltammetrischen Messungen der bioaktiven Substanzen wurden SW-Voltammogramme im Grundelektrolyten aufgenommen, bis sich ein stabiler und reproduzierbarer Grundstrom eingestellt hatte.

Tab. 1: Potentialmessbereiche der verwendeten Arbeitselektroden bei SWV-Messungen

Arbeitselektrode	pH-Wert	Potentialbereich
SPCE	7, 5, 3	-0,15 V bis 0,8 V
PyCE	7	-0,15 V bis 0,9 V
	3	-0,15 V bis 1,2 V
PEDOT-SPCE	7, 5	-0,15 V bis 0,6 V
	3	-0,15 V bis 0,8 V
Au-PEDOT-SPCE	7, 5, 3	-0,15 V bis 0,6 V
5-HT-SPCE	7	-0,15 V bis 0,6 V
	3	-0,15 V bis 0,8 V
5-HT-PEDOT-SPCE	7	-0,15 V bis 0,6 V
	3	-0,15 V bis 0,8 V

Es wurde der Einfluss des pH-Wertes auf die Bestimmung der bioaktiven Substanzen untersucht. Dafür wurden die kohlenstoffbasierten Arbeitselektroden sowohl in 0,1 mM PhP mit Zusatz von je 0,1 mM an DA, HVA, AA bzw. UA als auch in 0,1 M PhP mit dem Gemisch dieser Substanzen bei pH-Werten von 7, 5 und 3 mittels Cyclovoltammetrie und Square-Wave-Voltammetrie vermessen.

Für die Ermittlung der Sensitivität der Elektroden für Dopamin und Homovanillinsäure wurden SW-Voltammogramme aufgenommen, nachdem definierte Konzentrationen von DA bzw. HVA (aus Stammlösungen) der 0,1 M PhP-Lösung sowie der Modelllösung (je 0,5 mM AA und UA in 0,1 M PhP) zugesetzt wurden. Die Messungen von DA erfolgten bei einem pH-Wert von 7 und die von HVA bei pH 3. Aus den resultierenden Peakströmen wurden Kalibrierungsgeraden erstellt, mit denen die Empfindlichkeiten der verwendeten Arbeitselektroden für diese Stoffe bestimmt werden konnten. Die Messwerte der Kalibrierungskurven befinden sich im Anhang ab S. A-5.

Alle Potentialwerte in dieser Arbeit wurden gegen die SSE angegeben.

3.6 Auswertung der Messkurven

Die Auswertung der Messungen erfolgte mit der Software Origin 6.1 (Origin Lab, USA).

3.6.1 CV-Messungen

Die Oxidations- und Reduktions-Peakpotentiale E_{pa} und E_{pc} der untersuchten Substanzen in den Cyclovoltammogrammen wurden automatisch durch die Software Origin 6.1

erfasst. In Abb. 16 ist die Ermittlung der Oxidations- und Reduktions-Peakströme I_{pa} und I_{pc} beispielhaft an einem Cyclovoltammogramm für die Messung von PEDOT-SPCE in einer 0,1 mM DA-haltigen 0,1 M PhP-Lösung (pH 5) dargestellt.

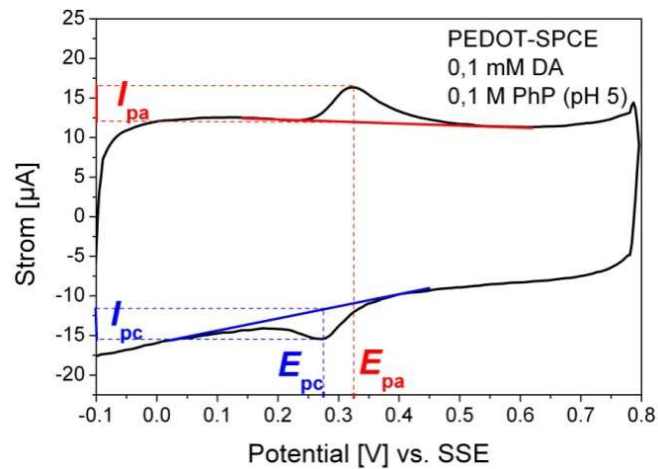


Abb. 16: Bestimmung der Peakströme eines Cyclovoltammogramms

3.6.2 SWV-Messungen

Zur Bestimmung der Oxidationspeakpotentiale E_{pa} in den Square-Wave-Voltammogrammen wurde die gleiche Auswertungssoftware wie für die CV-Voltammogramme verwendet. Die Ermittlung der Ströme der Oxidationspeaks I_{pa} erfolgte durch Differenzbildung der Messdaten der SW-Voltammogramme in unterschiedlichen Analyselösungen mit denen in den Referenzlösungen 0,1 M PhP bzw. der Modelllösung 0,5 mM UA und 0,5 mM AA in 0,1 M PhP.

In Abb. 17 wird dies am Beispiel des SW-Voltammogramms der HVA-Aufstockung an einer PEDOT-SPCE in 0,1 M PhP (pH 3) dargestellt.

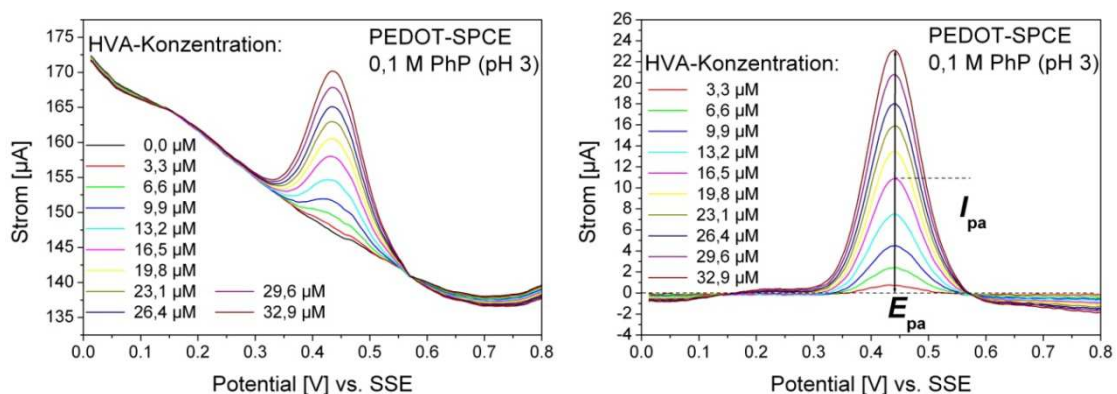


Abb. 17: Square-Wave-Voltammogramme verschiedener HVA-Konzentrationen an PEDOT-SPCE (links) und Bestimmung der Peakströme nach Differenzbildung mit der Referenzmessung in 0,1 M PhP (rechts)

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Graphit-Dickschicht-Elektroden (SPCE)

Graphit-Dickschicht-Elektroden weisen eine große Überspannung gegenüber Sauerstoff und Wasserstoff auf [65]. Sie sind damit für Messungen in einem breiten Potentialbereich einsetzbar und gut für die Bestimmung von Catecholaminen geeignet. In diesem Kapitel wurde der Einfluss des pH-Wertes auf die Messung von Dopamin (DA) und Homovanillinsäure (HVA) an SPCE in Gegenwart von Ascorbinsäure (AA) und Harnsäure (UA) untersucht sowie die Sensitivität von Graphit-Dickschicht-Elektroden für DA und HVA ermittelt und diskutiert.

4.1.1 Einfluss des pH-Wertes auf die Messungen an SPCE

Zur Bestimmung der optimalen Messbedingungen für die Untersuchung von Catecholaminen wurden voltammetrische Messungen (Cyclo- und Square-Wave) von DA, HVA, AA und UA bei pH-Werten von 7, 5 und 3 in einem Potentialbereich von -0,1 V bis +0,8 V (CV) bzw. -0,15 V bis +0,8 V (SWV) durchgeführt. Dazu wurden Voltammogramme der einzelnen Substanzen (je 0,1 mM) bzw. das Gemisch der Substanzen in 0,1 M Phosphatpufferlösungen verschiedener pH-Werte aufgenommen und gegenübergestellt. In Abb. 48 (Anhang S. A-2) sind die Cyclovoltammogramme und in Abb. 49 (Anhang S. A-2) die Square-Wave-Voltammogramme dieser Messungen dargestellt. Die Peakpotentiale und Peakströme der untersuchten Substanzen bei unterschiedlichen pH-Werten sind in Tab. 2 und Tab. 3 aufgelistet.

Aus den Cyclovoltammogrammen in Abb. 48 (Anhang S. A-2) ist ersichtlich, dass mit Abnahme des pH-Wertes von pH 7 zu pH 3 eine Verschiebung der Peaks der Substanzen in Richtung positiver Potentiale erfolgt. Diese Änderung ist für DA mit 394 mV im Vergleich zu 86 mV für AA und 121 mV für UA am größten. Im Potentialmessbereich wurde für HVA nur ein Stromanstieg, aber kein ausgeprägter Peak erhalten, sodass keine genauen Peakpotentiale ermittelt werden konnten.

Der Strom des Oxidationspeaks von DA ist mit 2,19 μ A (pH 7) im Vergleich zu AA mit 0,16 μ A und UA mit 0,75 μ A am größten und nimmt mit sinkendem pH-Wert auf 0,86 μ A (pH 3) ab. Für DA ist das Verhältnis von I_{pa}/I_{pc} gleich 1 in PhP-Lösungen mit pH 5 und pH 3. Im Gegensatz dazu erfolgt in Messlösungen mit pH 7 durch die in diesem Messbereich eintretende Folgereaktion eine Abnahme des Reduktionspeakstroms, so dass I_{pa}/I_{pc} gleich 2 erhalten wurde. Der Oxidationspeakstrom von Harnsäure wird mit sinkendem pH-Wert der Messlösung kleiner, während sich der

Reduktionspeakstrom mit ca. 0,15 μA nicht verändert, aber im Vergleich zum Oxidationspeakstrom wesentlich niedriger ist. Der Peakstrom von Ascorbinsäure wird mit sinkendem pH-Wert größer und ist bei pH 3 fast identisch mit dem von DA. Überraschenderweise wurde für HVA in Messlösungen mit pH 3 ein Reduktionspeak bei dem gleichen Potential wie für DA erhalten.

Die Oxidationspeaks von DA und AA bzw. UA liegen bei den Einzelmessungen weit auseinander, so dass man annehmen könnte, dass diese Stoffe auch im Gemisch zu bestimmen wären. Dies konnte experimentell durch entsprechende Messungen nicht bestätigt werden (Abb. 48, rechts unten). Die elektrochemischen Signale von Dopamin und Homovanillinsäure werden durch eine Überlagerung der Oxidationspeaks von Harnsäure und Ascorbinsäure gestört. Das heißt, DA und HVA können durch CV-Messungen in Gegenwart von AA und UA nicht bestimmt werden.

Tab. 2: Peakpotentiale und Peakströme aus Cyclovoltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer SPCE

Substanz	pH-Wert	E_{pa} [mV]	I_{pa} [μA]	E_{pc} [mV]	I_{pc} [μA]
Dopamin (DA)	7	238	2,19	132	0,99
	5	454	1,11	162	1,05
	3	632	0,86	222	0,75
Homovanillinsäure (HVA)	7	649	1,30	-	-
	5	701	1,76	-	-
	3	752	2,71	220	0,08
Ascorbinsäure (AA)	7	446	0,16	-	-
	5	463	0,62	-	-
	3	532	0,81	-	-
Harnsäure (UA)	7	528	0,75	291	0,15
	5	568	0,66	420	0,16
	3	649	0,51	529	0,15

Die Ergebnisse der SW-voltammetrischen Messungen (Abb. 49 [Anhang S. A-2]) stimmen bezüglich der pH-Abhängigkeit der Peakpotentiale und Peakströme im Wesentlichen mit denen der CV-Untersuchungen überein. Im Gegensatz zur CV sind bei der SWV die Strompeaks der Substanzen aber deutlicher ausgeprägt. Für DA wird zudem ein um das 6-fach größerer Oxidationsstrom im Vergleich zu CV-Messungen in Messlösungen von pH 7 erhalten. Für HVA werden ab dem zweiten Scan zwei Oxidationspeaks erhalten. Der erste Peak wird an einem ähnlichen Potential ($E = 221$ mV) wie das für DA ($E = 190$ mV) detektiert, tritt aber erst im zweiten Scan auf. Bei diesem Potential werden vermutlich Produkte, die bei der ersten Oxidation von HVA entstehen, umgesetzt. Der Strom des zweiten Oxidationspeaks lässt sich durch die SWV-Methode im Gegensatz zu den CV-Messungen gut bestimmen. Das Signal beider Peaks nimmt mit sinkenden pH-Werten zu.

Aus Abb. 49, rechts unten ist zu erkennen, dass die Bestimmung des zweiten Oxidationspeaks von Homovanillinsäure in PhP- Lösungen mit pH 3 auch im Gemisch durch die gute Peaktrennung von UA und HVA möglich wäre. DA könnte nur im Gemisch gleicher Konzentrationen der Substanzen bestimmbar sein.

Tab. 3: Peakpotentiale und Peakströme aus SW-Voltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer SPCE

Substanz	pH-Wert	E_{pa1} [mV]	I_{pa1} [μ A]	E_{pa2} [mV]	I_{pa2} [μ A]
Dopamin (DA)	7	190	12,42	-	-
	5	309	3,50	-	-
	3	422	1,05	-	-
Homovanillinsäure (HVA)	7	221	0,15	616	0,48
	5	312	0,17	638	0,92
	3	411	0,17	710	1,90
Ascorbinsäure (AA)	7	332	0,25	-	-
	5	341	0,50	-	-
	3	351	0,64	-	-
Harnsäure (UA)	7	408	0,88	-	-
	5	481	1,22	-	-
	3	584	0,68	-	-

4.1.2 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an SPCE

Da das Signal von 0,1 mM Dopamin in Messlösungen mit pH 7 am größten war, wurde die Peakstrom-Konzentrations-Abhängigkeit von DA bei diesem pH-Wert bestimmt. Dagegen erfolgten die Messungen von HVA aufgrund des höchsten Signals in Messlösungen mit einem pH-Wert von 3.

In Abb. 18 sind die SW-Voltammogramme an SPCE in 0,1 M Phosphatpufferlösungen (pH 7) mit Dopamin-Konzentrationen von 0 μ M bis 6 μ M sowie die entsprechende Kalibrierungskurve dargestellt. Es bestand ein linearer Zusammenhang zwischen der Dopamin-Konzentration und dem gemessenen Peakstrom. Die ermittelte Sensitivität an der SPCE für Dopamin betrug 0,19 μ A/ μ M DA.

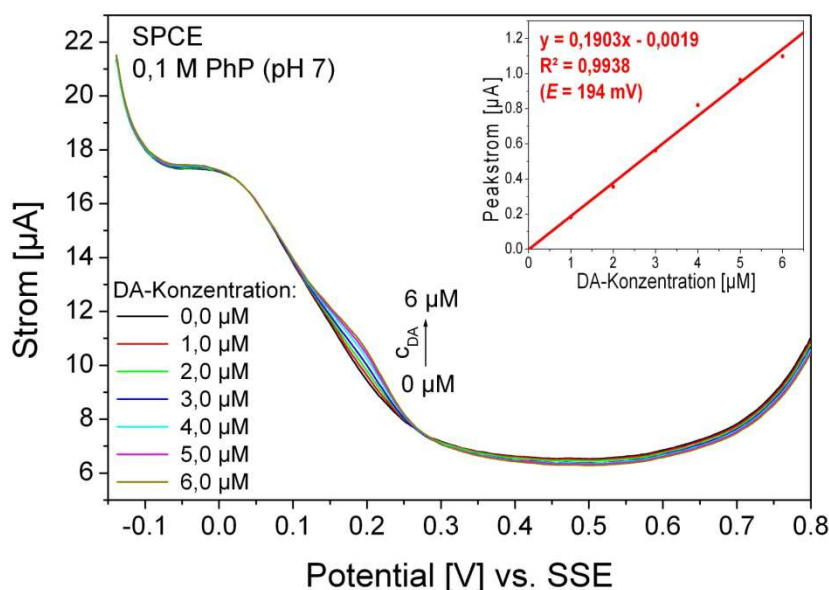


Abb. 18: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer SPCE mit Kalibrierungskurve

Die SWV-Messungen zur Bestimmung der Sensitivität der Graphit-Dickschicht-Elektrode für Homovanillinsäure erfolgten in 0,1 M Phosphatpufferlösungen bzw. in dem Modellanalyten 0,1 M PhP; 0,5 mM AA und 0,5 mM UA mit einem pH-Wert von 3.

In der Abb. 19 sind die SW-Voltammogramme an SPCE in PhP mit Zusatz von unterschiedlichen Homovanillinsäure-Konzentrationen (3,3 μM bis 32,9 μM) und die entsprechenden Kalibrierungskurven dargestellt. Am ersten Oxidationspotential ($E = 439 \text{ mV}$) in der reinen PhP-Lösung bestand kein linearer Zusammenhang zwischen den Peakströmen und der HVA-Konzentration im gesamten Konzentrationsbereich. Die Abhängigkeit des Peakstroms von der Konzentration folgt der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,9978$ (Abb. 19, Ausschnitt). Im linearen Bereich von 9,9 μM bis 32,9 μM beträgt die Sensitivität der SPCE für Homovanillinsäure 0,041 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA. Für die Messung am zweiten Oxidationspotential ($E = 699 \text{ mV}$) wurde eine Sensitivität von 0,013 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA ermittelt.

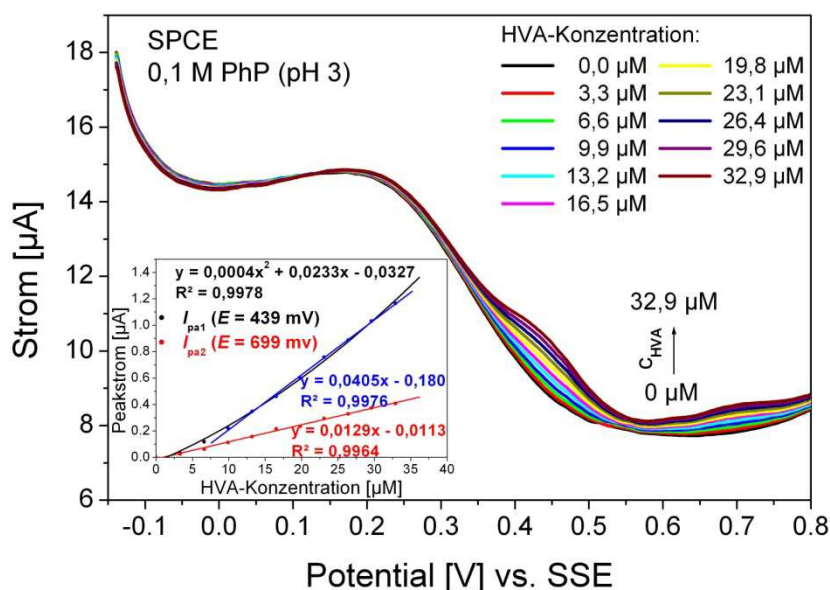


Abb. 19: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer SPCE mit Kalibrierungskurven

Im Modellanalyten (Abb. 20) wurde für die Messung am ersten Peakpotential ($E = 456 \text{ mV}$) keine Linearität zwischen der HVA-Konzentration und dem Peakstrom erhalten. Über den gesamten Konzentrationsbereich folgt die Abhängigkeit des Peakstroms von der HVA-Konzentration der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,9988$. Im Konzentrationsbereich von 0,6 μM bis 13,2 μM HVA bzw. im Bereich 16,5 μM bis 32,9 μM HVA wurde ein linearer Zusammenhang zwischen HVA-Konzentration und gemessenem Peakstrom mit einer Sensitivität für HVA von 0,005 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA bzw. 0,017 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA erhalten. Am zweiten Oxidationspotential ($E = 708 \text{ mV}$) beträgt die Sensitivität der Elektrode 0,023 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA.

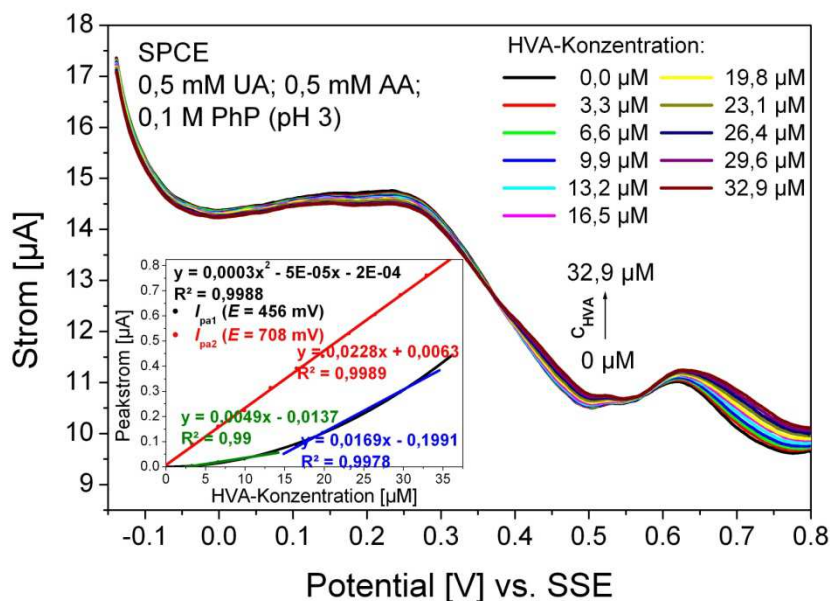


Abb. 20: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer SPCE und Kalibrierungskurven

Die ermittelte Sensitivität von SPCE für HVA am ersten Peakpotential ist in der reinen Phosphatpufferlösung höher als im Modellanalyten. Am zweiten Peakpotential ist das Messergebnis in den Analyten umgekehrt. Dieser Sachverhalt muss durch weiterführende Messungen noch geklärt werden.

4.2 Pyrolytische Kohlenstoff-Elektroden (PyCE)

Pyrolytischer Kohlenstoff besitzt eine glatte, definierte Oberfläche [66]. Deshalb ist anzunehmen, dass mit Arbeitselektroden dieses Materials genauere, reproduzierbare Messergebnisse erzielt werden können. Im Folgenden werden der Einfluss des pH-Wertes auf die SWV-Messung von DA, HVA, AA und UA an PyCE in 0,1 M PhP-Lösung untersucht sowie die Sensitivität von pyrolytischen Kohlenstoff-Elektroden für DA und HVA in reinen Phosphatpufferlösungen und in Gegenwart von Ascorbinsäure und Harnsäure ermittelt und diskutiert.

4.2.1 Einfluss des pH-Wertes auf die Messungen an PyCE

Zur Untersuchung der pH-Abhängigkeit der Messsignale von DA, HVA, AA und UA wurden SW-Voltammogramme der jeweiligen Substanzen (je 0,1 mM) in 0,1 M PhP mit pH 7 bzw. pH 3 aufgenommen. Die Messungen wurden in einem Potentialbereich von -0,15 V bis 0,9 V durchgeführt. In Abb. 21 sind die SW-Voltammogramme der Einzelmessungen dargestellt. Die Peakpotentiale und Peakströme der 0,1 mM Substanzen sind in Tab. 4 aufgeführt.

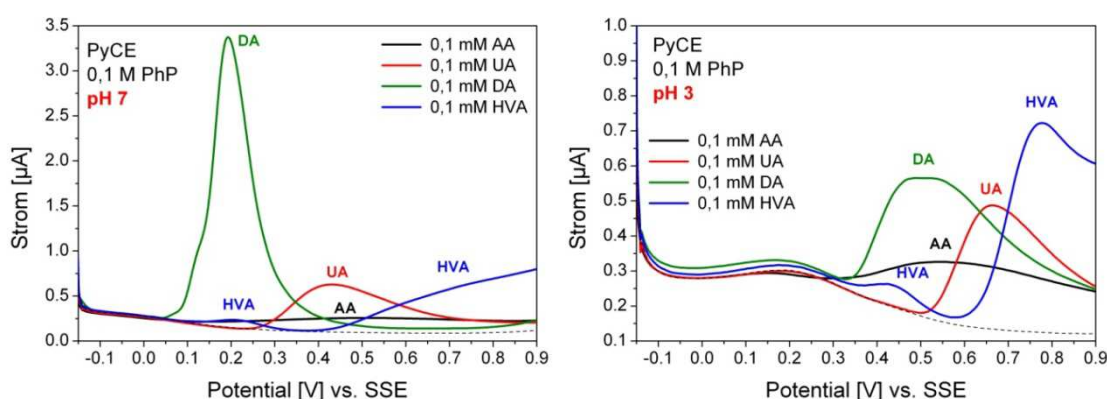


Abb. 21: Square-Wave-Voltammogramme von je 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer PyCE bei pH-Werten von 7 (links) und 3 (rechts)

Mit einer Änderung des pH-Wertes von 7 auf 3 verschieben sich die Peaks der zu untersuchenden Substanzen erwartungsgemäß in Richtung positiver Potentiale, wobei nur das Peakpotential von UA gemäß NERNSTschen pH-Verhaltens verschoben wird. Die Potentialänderung von DA ist mit 87 mV/pH am größten, im Gegensatz dazu

beträgt sie bei AA nur 33 mV/pH und bei HVA 55 mV/pH (E_{pa1}) bzw. 25 mV/pH (E_{pa2}). Die Peakströme von DA und UA werden, wie auch an der SPCE-Elektrode festgestellt, mit sinkendem pH-Wert um ca. 78 % (DA) und ca. 23 % (UA) kleiner, die Peakströme von AA hingegen etwas größer. Der Strom des ersten Oxidationspeaks von HVA nimmt mit sinkendem pH-Wert ab und der des zweiten Oxidationspeaks zu. Alle an der PyCE ermittelten Peakströme sind wesentlich niedriger als die der SPCE, da sie eine kleinere tatsächliche Oberfläche besitzt.

Tab. 4: Peakpotentiale und Peakströme von je 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer PyCE

Substanz	pH-Wert	E_{pa1} [mV]	I_{pa1} [μ A]	E_{pa2} [mV]	I_{pa2} [μ A]
Dopamin (DA)	7	194	3,27	-	-
	3	542	0,40	-	-
Homovanillinsäure (HVA)	7	215	0,09	680	0,46
	3	436	0,06	778	0,60
Ascorbinsäure (AA)	7	484	0,17	-	-
	3	616	0,18	-	-
Harnsäure (UA)	7	434	0,53	-	-
	3	667	0,35	-	-

4.2.2 Bestimmung von DA und HVA im Modellanalyten an PyCE

In Abb. 22 sind die SW-Voltammogramme unterschiedlicher DA- und HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP-Lösung mit Zusatz von je 0,5 mM AA und UA an einer PyCE dargestellt. Die elektrochemischen Signale von Dopamin und Homovanillinsäure werden durch eine Überlagerung mit den Oxidationspeaks von Harnsäure und Ascorbinsäure erheblich gestört. Homovanillinsäure konnte in Gegenwart dieser hohen Konzentrationen an Ascorbinsäure und Harnsäure nicht bestimmt werden, Dopamin wäre erst ab einer Konzentration von 2 μ M bei diesen konstanten UA- und AA-Konzentrationen nachweisbar.

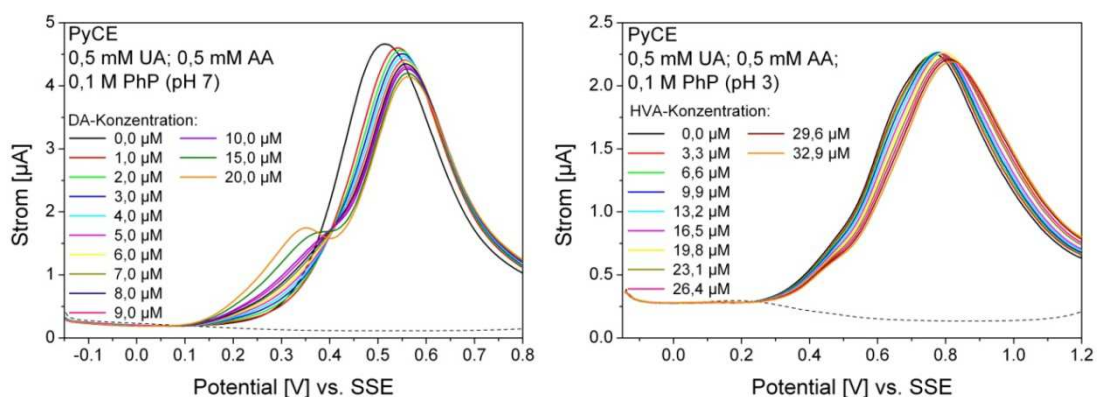


Abb. 22: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 7 an einer PyCE (links) und für verschiedene HVA-Konzentrationen bei pH 3 (rechts)

4.2.3 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an PyCE

Die Bestimmung der Sensitivität von pyrolytischen Kohlenstoff-Elektroden für Dopamin und Homovanillinsäure wurde in reinen Phosphatpufferlösungen ermittelt, da es in Gegenwart von hohen Konzentrationen an Ascorbinsäure und Harnsäure zu einer Überlagerung der Peaks kommt. Die SW-Voltammogramme für die Dopamin-Messung wurden in einem Potentialbereich von -0,15 V bis 0,8 V und die der Homovanillinsäure-Messung in einem Potentialbereich von -0,15 V bis 1,2 V aufgenommen.

Die Ermittlung der Sensitivität von pyrolytischen Kohlenstoff-Elektroden für Dopamin erfolgte wie bei den Messungen an SPCE in 0,1 M Phosphatpufferlösungen bei pH 7. In Abb.23, sind die SW-Voltammogramme (links) an PyCE in PhP mit unterschiedlichen Dopamin-Konzentrationen (0 μM bis 20 μM) und die Abhängigkeit der Peakströme von der DA-Konzentration (rechts) dargestellt.

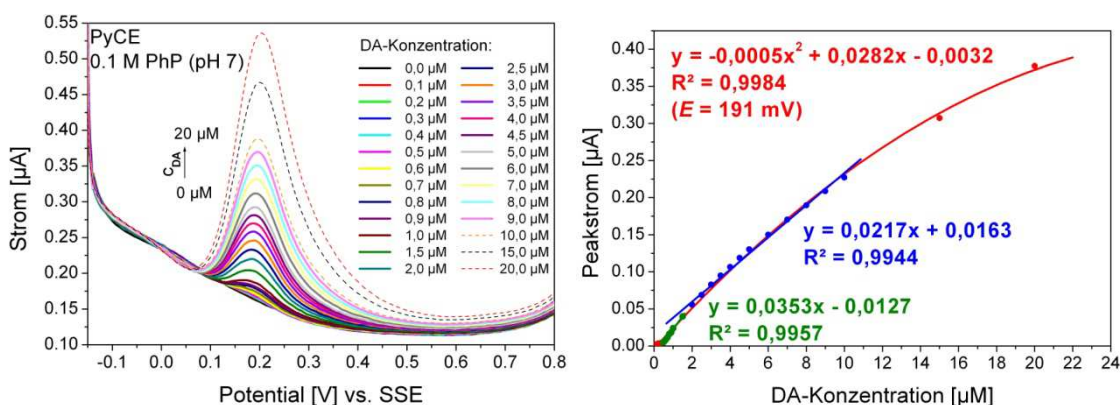


Abb. 23: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer PyCE (links) und Kalibrierungskurven (rechts)

Es bestand kein linearer Zusammenhang zwischen der Dopamin-Konzentration und dem gemessenen Peakstrom über den ganzen DA-Konzentrationsbereich, was auf eine Belegung der Elektrodenoberfläche durch entstehende Oxidationsprodukte hinweist. Nur in einem Konzentrationsbereich von 0,5 μM bis 1,5 μM DA bzw. 1,5 μM bis 10 μM DA verhält sich der Peakstrom linear zur DA-Konzentration. Die Sensitivität der Elektrode beträgt in diesem Bereich 0,035 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA bzw. 0,022 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA. Die Abhängigkeit des Peakstroms von der DA-Konzentration über den gesamten Konzentrationsbereich folgt der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,9984$ (Abb. 23, rechts).

Die SWV-Messungen an PyCE in 0,1 M Phosphatpufferlösungen (pH 3) unterschiedlicher HVA-Konzentrationen sind in der Abb. 24, links dargestellt.

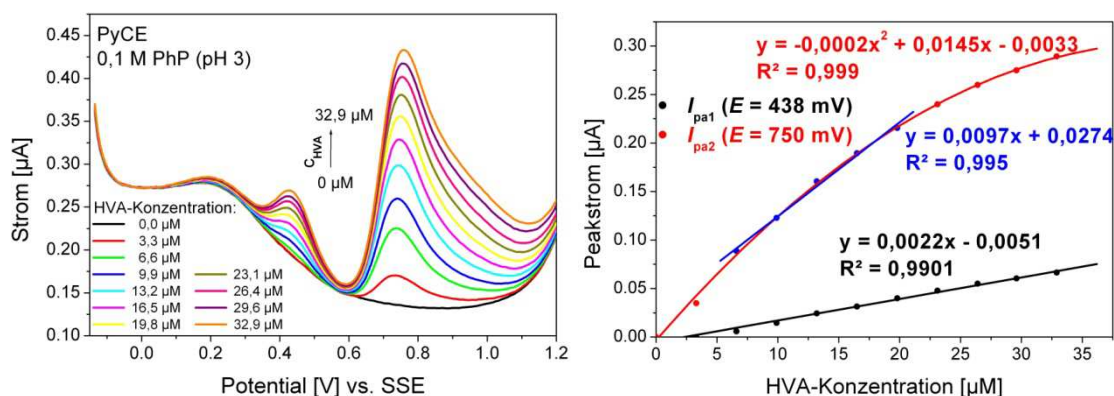


Abb. 24: Square-Wave-Voltammogramm für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer PyCE (links) und Kalibrierungskurven (rechts)

Die ermittelte Sensitivität der Messelektrode (Abb. 24, rechts) für HVA an dem ersten Oxidationspeak ($E = 438$ mV) beträgt $0,0022 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA. Für Messungen am zweiten Oxidationspotential ($E = 750$ mV) folgt die Abhängigkeit des Peakstrom von der Konzentration über den ganzen Messbereich der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,999$. Nur in dem Konzentrationsbereich von $6,6 \mu\text{M}$ bis $19,8 \mu\text{M}$ ist ein linearer Zusammenhang zwischen Peakstrom und HVA-Konzentration zu verzeichnen. Die Sensitivität der Elektrode beträgt in diesem Bereich $0,0097 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA.

4.3 PEDOT-modifizierte SPCE

Nach den Untersuchungen von Tran [11] ist bekannt, dass die Modifizierung von Graphit-Dickschicht-Elektroden mit PEDOT aus der Elektrolytlösung $0,1 \text{ M}$ EDOT, $0,1 \text{ M}$ NaH_2PO_4 , $1, 5 \text{ M}$ Lutensit (Tensid) im Vergleich zu reinen SPCE eine wesentlich größere Separation der Oxidationspeaks und damit Selektivität von DA, AA und UA ermöglicht.

In diesem Abschnitt werden der Einfluss des pH-Wertes (pH 7, pH 5 und pH 3) auf die Peakpotentiale und Peakströme von DA, HVA, AA und UA sowie die Sensitivität von PEDOT-modifizierten Graphit-Dickschicht-Elektroden (PEDOT-SPCE) für DA und HVA in $0,1 \text{ M}$ PhP bzw. im Modellanalyten ($0,1 \text{ M}$ PhP; $0,5 \text{ mM}$ AA; $0,5 \text{ mM}$ UA) untersucht und diskutiert.

4.3.1 Abscheidung der PEDOT-Schicht auf SPCE

Die Modifizierung der SPCE-Oberflächen mit PEDOT-Filmen erfolgte mittels chronocoulometrischer Abscheidung bei $1,0 \text{ V}$ (60 s Vorkonditionierung bei $0,2 \text{ V}$) aus der Elektrolytlösung $0,1 \text{ M}$ EDOT, $0,1 \text{ M}$ NaH_2PO_4 , $1, 5 \text{ M}$ Lutensit (Tensid). Die Elektrodenoberflächen konnten so schnell und einfach mit PEDOT aus wässrigen EDOT-haltigen Lösungen beschichtet werden. Die Schichtdicke und damit der Grundstrom

der PEDOT-Filme hängen von der bei der Polymerisation gewählten Ladungsmenge ab. In dieser Arbeit erfolgten die PEDOT-Abscheidungen mit einer Ladung von 4 mC, da mit diesen PEDOT-Elektroden die besten Ergebnisse hinsichtlich reproduzierbarer, selektiver und sensibler Messsignale bioaktiver Stoffe [67] erhalten wurden. In Abb. 25 sind je ein Cyclovoltammogramm einer unmodifizierten Graphit-Dickschicht-Elektrode und einer PEDOT-SPCE dargestellt, die in einer Phosphatpufferlösung (pH 7) im Potentialbereich von -0,15 V bis +0,8 V mit $v = 50$ mV/s aufgenommen wurden.

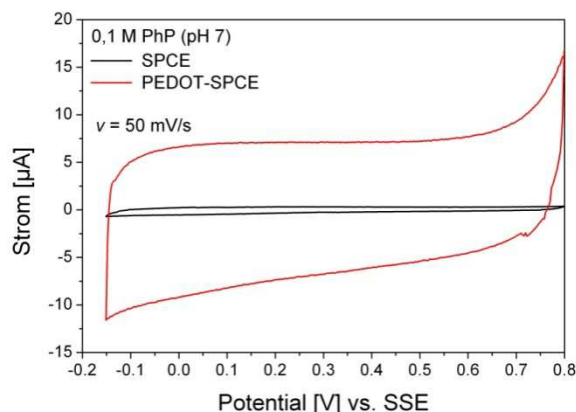


Abb. 25: Cyclovoltammogramme von einer Graphit-Dickschicht-Elektrode vor und nach der PEDOT-Modifizierung mit einer Ladungsmenge von 4 mC in 0,1 M PhP (pH7)

Der Grundstrom der PEDOT-SPCE bei beispielsweise 0,2 V ist mit 7,13 μ A wesentlich größer im Vergleich zu der unmodifizierten SPCE mit $I = 0,39$ μ A, da die Oberfläche durch die schwammartige Struktur der Polymerschicht vergrößert wird.

4.3.2 Einfluss des pH-Wertes auf die Messungen an PEDOT-SPCE

Der Einfluss des pH-Wertes auf die Lage und Höhe der Oxidations- und Reduktionspeaks von DA, HVA, UA und AA wurde in 0,1 M PhP (pH 7, pH 5 bzw. pH 3) mit Zusatz von 0,1 mM der jeweiligen bioaktiven Substanz untersucht. Die Messungen wurden einem Potentialbereich von -0,1 V bis +0,8 V für CV bzw. -0,15 V bis +0,8 V für SWV durchgeführt. In der Abb. 50 (Anhang S. A-3) bzw. 51 (Anhang S. A-3) sind die entsprechenden Cyclovoltammogramme bzw. Square-Wave-Voltammogramme dargestellt. Die Werte der Peakpotentiale und Peakströme sind in den Tabellen 5 und 6 aufgeführt.

Es wurde wie schon oben angemerkt eine gute Peakseparation der untersuchten bioaktiven Stoffe sowohl bei den Messungen der einzelnen Substanzen als auch in deren Gemisch erhalten. Die Peakpotentiale der untersuchten Substanzen verschieben sich bei cyclovoltametrischen Messungen (Abb. 50 [Anhang S. A-3]) mit Änderung des pH-Wertes von 7 bis 3 in Richtung positiver Potentiale. Die Elektrode weist für DA

NERNSTsches pH-Verhalten auf, für HVA wird eine Potentialänderung von ca. 50 mV/pH, für UA 58 mV/pH und für AA 40 mV/pH bis 50 mV/pH erhalten.

Der Strom des Oxidationspeaks von DA ist an der PEDOT beschichteten SPCE in Messlösungen mit pH 7 mit ca. 4 μ A um das Doppelte höher als bei der unmodifizierten Elektrode. Mit einer Änderung des pH-Wertes von 7 auf 3 wird der Oxidationspeakstrom von HVA um 33 % größer, im Vergleich zur SPCE sind die Ströme bei pH 3 um ca. 20 % höher. Bei einem pH-Wert von 3 bildet sich im anodischen Durchlauf ein Doppelpeak aus. Die Ströme der UA-Oxidationspeaks sind im gesamten pH-Bereich im Vergleich zu den anderen bioaktiven Stoffen am größten und die Peakströme von Ascorbinsäure am kleinsten. Alle Ströme der Reduktionspeaks der Substanzen sind im Vergleich zu den Oxidationspeaks wesentlich kleiner.

Tab. 5: Peakpotentiale und Peakströme aus Cyclovoltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer PEDOT-SPCE

Substanz	pH-Wert	E_{pa1} [mV]	I_{pa1} [μ A]	E_{pa2} [mV]	I_{pa2} [μ A]	E_{pc} [mV]	I_{pc} [μ A]
Dopamin (DA)	7	190	4,07	-	-	158	2,46
	5	318	4,16	-	-	266	3,39
	3	439	3,37	-	-	376	2,76
Homovanillinsäure (HVA)	7	427	3,31	-	-	158	1,08
	5	518	3,83	-	-	283	1,40
	3	617	4,42	670	2,01	380	0,91
Ascorbinsäure (AA)	7	-10	0,43	-	-	-	-
	5	74	1,67	-	-	-	-
	3	172	3,70	-	-	-	-
Harnsäure (UA)	7	317	5,68	-	-	286	0,93
	5	435	8,40	-	-	393	0,71
	3	548	4,81	-	-	-	-

Die Änderungen der Peakpotentiale der untersuchten Stoffe mit Variation des pH-Wertes von pH 7 zu pH 3 stimmen bei den SWV- (Abb. 51 [Anhang S. A-3]) und CV-Messungen (Abb. 50 [Anhang S. A-3]) überein. Es ist ebenfalls eine gute Peakseparation erkennbar. Die SW-Voltammogramme bei pH 7 in Abb. 51, links oben weisen für DA (58,73 μ A) und für UA (38,27 μ A) die größten Oxidationspeakströme auf. Für DA wird damit im Vergleich zur CV-Messung der ca. 15-fache Oxidationsstrom erhalten, im Vergleich zu SW-Messungen an der SPCE wird der 5-fache Strom detektiert. Mit sinkendem pH-Wert nehmen die Ströme der Peaks von DA und UA sehr stark ab.

Im SW-Voltammogramm in 0,1 M PhP (pH 7) mit Zusatz von 0,1 mM HVA wurden zwei Oxidationspeaks ab dem zweiten Scan erhalten. Das Oxidationspotential ($E = 189$ mV) des ersten Peaks ist fast identisch mit dem von DA. Bei pH-Werten der Messlösungen von 5 und 3 ist im Gegensatz zu den CV-Messungen nur ein deutlicher Peak zu

erkennen. Das Signal des Peaks nimmt mit sinkenden pH-Werten von 18,52 μA (pH 7) zu 8,05 μA (pH 3) ab. Die Peakströme von AA sind ebenfalls bei dieser Messmethode am kleinsten.

Tab. 6: Peakpotentiale und Peakströme aus Square-Wave-Voltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer PEDOT-SPCE

Substanz	pH-Wert	E_{pa1} [mV]	I_{pa1} [μA]	E_{pa2} [mV]	I_{pa2} [μA]
Dopamin (DA)	7	175	58,73	-	-
	5	301	13,78	-	-
	3	409	6,57	-	-
Homovanillinsäure (HVA)	7	189	18,52	378	4,74
	5	310	12,76	-	-
	3	421	8,05	-	-
Ascorbinsäure (AA)	7	-39	1,44	-	-
	5	40	0,63	-	-
	3	157	1,68	-	-
Harnsäure (UA)	7	292	38,27	-	-
	5	402	7,63	-	-
	3	533	1,74	-	-

4.3.3 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an PEDOT-SPCE

Da die Peakströme von DA und HVA bei der SWV größer als bei der CV waren, wurde diese Methode zur Bestimmung der Sensitivität von PEDOT-SPCE für DA und HVA verwendet. Resultierend aus den obigen Ergebnissen wurde DA in Messlösungen mit pH 7 bestimmt. Der Peakstrom von Homovanillinsäure ist zwar bei einem pH 3 50 % kleiner als bei pH 7, aber die Querempfindlichkeit von UA ist bei diesem pH-Wert am geringsten, da der Strom des Peaks von UA mit 1,74 μA (pH 3) nur noch 1/22 des ermittelten Peakstroms bei pH 7 ist. Die Messungen von HVA wurden deshalb in Analytlösungen bei pH 3 durchgeführt. Die SW-Voltammogramme wurden in einem Potentialbereich von -0,15 V bis 0,6 V für DA bzw. -0,15 V bis 0,8 V für HVA aufgenommen

Die SWV-Untersuchungen zur Ermittlung der Sensitivität der PEDOT-modifizierten Elektroden für Dopamin erfolgten in dem Modellanalyten 0,1 M PhP, 0,5 mM AA, 0,5 mM UA. In Abb. 26 sind die SW-Voltammogramme an PEDOT-SPCE mit Zusatz unterschiedlicher Dopamin-Konzentrationen (0 μM bis 20 μM) und die entsprechende Kalibrierungskurve dargestellt. Die ermittelte Sensitivität der PEDOT-SPCE für Dopamin beträgt 0,34 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA, ist damit 44 % höher im Vergleich zu der der SPCE. Sie stimmt mit der von *Tran* ermittelten (0,32 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$) [11] fast überein.

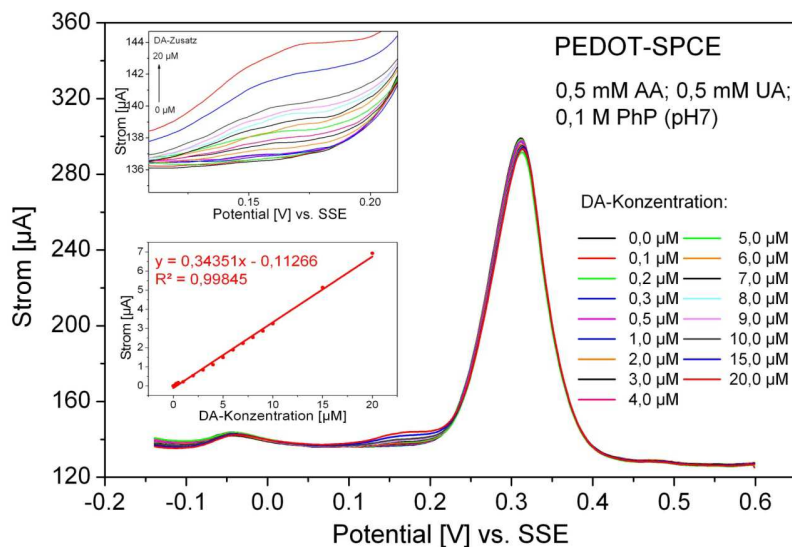


Abb. 26: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer PEDOT-SPCE mit Peakausschnitt und Kalibrierungskurve

Die SWV-Messungen zur Bestimmung der Sensitivität der PEDOT-modifizierte SPCE für Homovanillinsäure erfolgten sowohl in reinen 0,1 M Phosphatpufferlösungen bei einem pH-Wert von 3 als auch mit Zusatz von je 0,5 mM Ascorbinsäure und Harnsäure. In den Abb. 27 und 28 sind die SW-Voltammogramme an PEDOT-SPCE mit unterschiedlichen Homovanillinsäure-Konzentrationen (0 μM bis 32,9 μM) und entsprechenden Kalibrierungskurven dargestellt

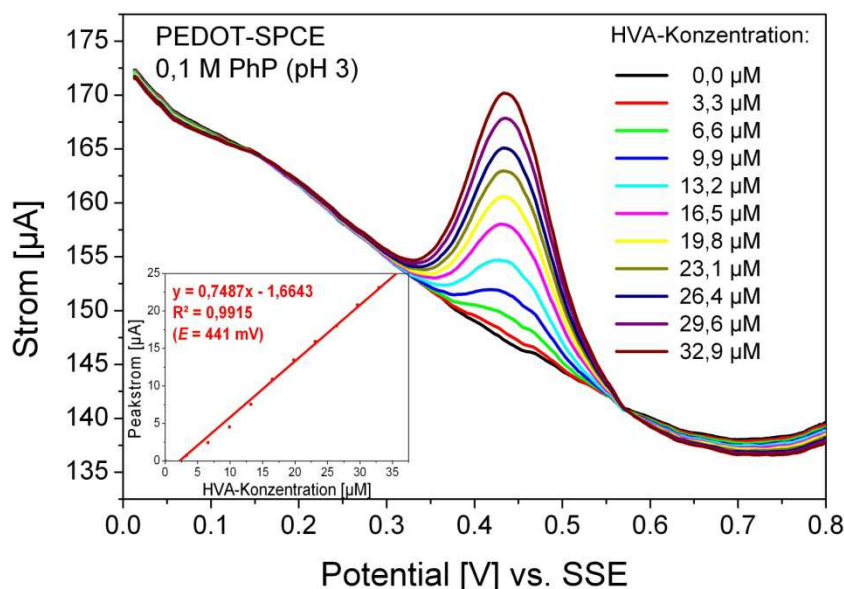


Abb. 27: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurve

Die ermittelte Sensitivität für Homovanillinsäure beträgt 0,75 μA/μM HVA in reiner Phosphatpufferlösung und ist im Vergleich zu den Messungen an SPCE um das 18-fache größer.

In Gegenwart von Ascorbinsäure und Harnsäure besteht kein linearer Zusammenhang zwischen der HVA-Konzentration und den gemessenen Peakströmen über den gesamten Konzentrationsbereich. Die Abhängigkeit der Peakströme von der HVA-Konzentration folgt der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,9966$ (Abb. 28, Ausschnitt). Im Konzentrationsbereich von 6,6 μM bis 32,9 μM konnte eine Linearität ermittelt werden. Die Sensitivität der Elektrode für HVA beträgt hier 0,40 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$. Das heißt, die Sensitivität der Elektrode für HVA nimmt in Anwesenheit von AA und UA um ca. 50 % ab. Dieser Sachverhalt trat auch bei den Messungen an SPCE auf, wofür zurzeit keine Erklärung abgegeben werden kann.

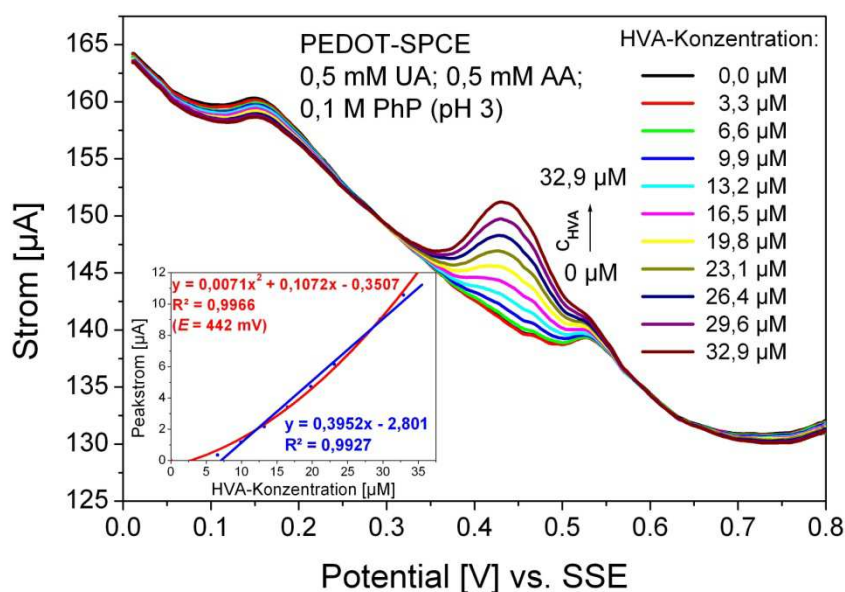


Abb. 28: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven

4.4 Au-PEDOT-modifizierte Elektroden

Durch die cyclovoltammetrische Abscheidung von Au-Nanopartikeln auf die PEDOT-Oberfläche einer SPCE wurde von Tran [11] an diesen Elektroden ein um ca. 70 % höheres Dopamin-Messsignal erhalten. In dieser Arbeit wurde angestrebt, diese Ergebnisse zu erreichen und durch die zusätzliche Untersuchung der Homavanillinsäure (Derivat von DA) einen möglichen Ansatz geben, die medizinische Diagnostik zu verbessern.

In diesem Kapitel werden der Einfluss der Goldsäure-Konzentration auf die Abscheidung von Au-Nanopartikeln auf PEDOT-SPCE und auf die Sensitivität der Au-PEDOT-SPCE für DA und HVA untersucht und diskutiert. Außerdem wurde auch an diesem Elektrodentyp die Abhängigkeit der Peakpotentiale und Peakströme von DA, HVA, AA und UA vom pH-Wert der Messlösung bestimmt.

4.4.1 Gold-Nanopartikel-Abscheidung an PEDOT-SPCE

Die Abscheidung der Gold-Nanopartikel erfolgte nach *Tran* [68] aus einer 1,0 mM Goldsäure-haltigen 0,1 M PhP-Lösung (pH 7) mittels cyclischer Voltammetrie (10 Zyklen, 50 mV/s) im Potentialbereich von +1,0 V bis -0,4 V an der PEDOT-modifizierten Graphit-Elektrode. Außerdem wurden für die Au-Nanopartikel-Modifizierung der PEDOT-Elektroden weitere PhP-Lösungen mit Zusatz von 0,5 mM und 0,8 mM HAuCl_4 eingesetzt, da die hohe Sensitivität für DA an der nach optimalen Bedingungen nach *Tran* hergestellten Au-PEDOT-Elektrode nicht erhalten wurde.

In den Abb. 29 und 30 sind die cyclovoltammetrischen Au-Abscheidungen in einer 0,5 mM bzw. einer 1,0 mM HAuCl_4 -haltigen 0,1 M PhP-Lösung dargestellt. Die erhaltenen mit Au-Nanopartikel modifizierten PEDOT-Elektroden werden im Folgenden als $\text{Au}_{0,5}$ -PEDOT-SPCE bzw. $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE bezeichnet.

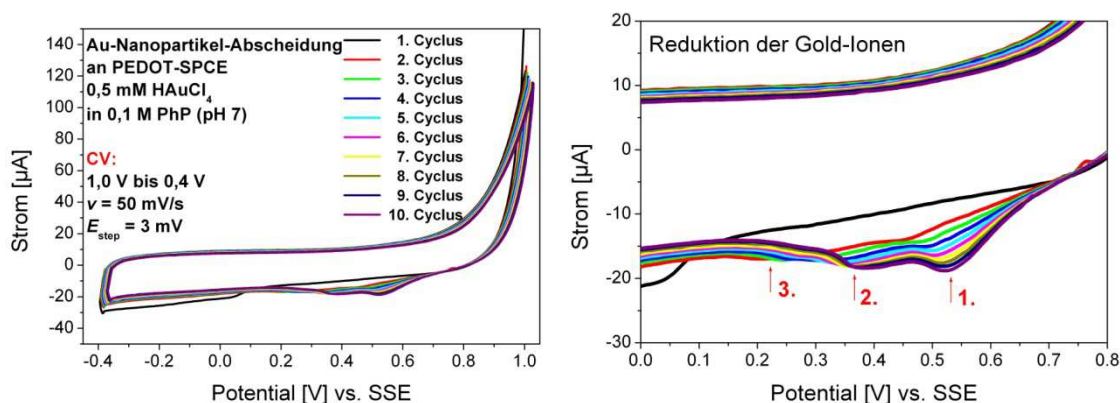


Abb. 29: Cyclovoltammetrische Abscheidung von Gold-Nanopartikeln an PEDOT-SPCE aus einer 0,5 mM HAuCl_4 -Lösung (links) und Reduktionspeaks der Gold-Ionen (rechts)

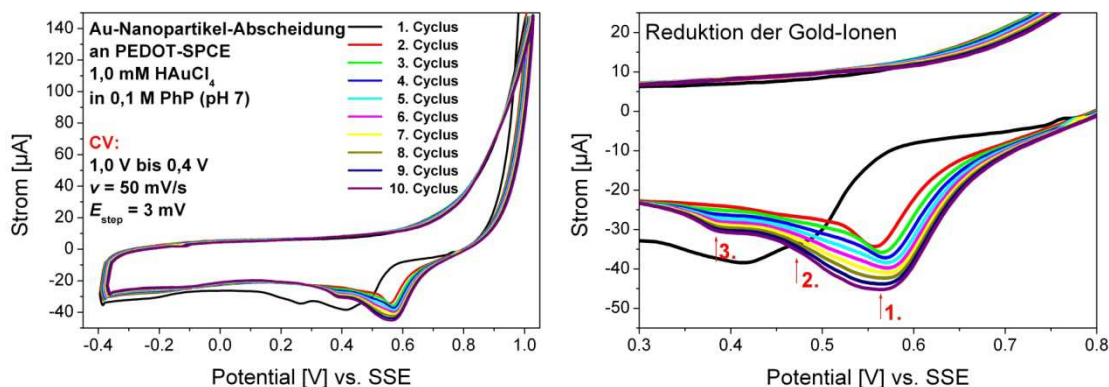


Abb. 30: Cyclovoltammetrische Abscheidung von Gold-Nanopartikeln an PEDOT-SPCE aus einer 1,0 mM HAuCl_4 -Lösung (links) und Reduktionspeaks der Gold-Ionen (rechts)

Die Abscheidung der Gold-Nanopartikel erfolgte in drei Reduktionsstufen von Au^{3+} zu Au^0 . Der erste charakteristische Reduktionspeak befindet sich bei etwa 530 mV für eine 0,5 mM HAuCl_4 -Lösung und bei etwa 560 mV für eine 1,0 mM. Der Reduktionsstrom der Gold-Ionen ist in der 1,0 mM Goldsäure-haltigen Lösung größer

als bei der 0,5 mM Lösung. Das heißt, es wird eine höhere Konzentration von Gold-Nanopartikel auf der Oberfläche abgeschieden.

4.4.2 Einfluss des pH-Wertes auf die Messung an Au-PEDOT-SPCE

Zur Bestimmung der optimalen Messbedingungen für die Untersuchung von Dopamin und Homovanillinsäure wurden CV- und SWV-Messungen von DA, HVA, AA und UA bei pH-Werten von 7, 5 und 3 in einem Potentialbereich von -0,1 V bis +0,8 V für CV bzw. -0,15 V bis +0,8 V für SWV durchgeführt. In Abb. 52 (Anhang S. A-4) sind die Cyclovoltammogramme und in Abb. 53 (Anhang S. A-4) die Square-Wave-Voltammogramme der einzelnen 0,1 mM Stoffe in 0,1 M PhP an der Au_{1,0}-PEDOT-SPCE dargestellt. Die Peakpotentiale und Peakströme der untersuchten Substanzen bei unterschiedlichen pH-Werten sind in Tab. 7 und Tab. 8 aufgelistet.

Bei den cyclovoltammetrischen Messungen in 0,1 M PhP mit Zusatz der 0,1 mM bioaktiven Stoffe bzw. Stoffgemische konnten bis auf die Erhöhung des UA-Stromes (pH 5) keine wesentlichen Änderungen im Hinblick auf Peakpotential und -strom der bioaktiven Stoffe im Vergleich zu den Messungen an PEDOT-SPCE im gesamten pH-Bereich von pH 7 bis pH 3 festgestellt werden.

Dieser Sachverhalt trifft auch für die Änderung der Peakpotentiale der SWV-Messungen zu. Im Vergleich zu den PEDOT-SPCE wirkte sich die Modifizierung mit Au-Nanopartikeln positiv auf die Erhöhung der Peakströme für DA (um 11 %, pH 7) und für HVA (um 39 %, pH 3) aus.

Tab. 7: Peakpotentiale und Peakströme aus Cyclovoltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer Au_{1,0}-PEDOT-SPCE

Substanz	pH-Wert	E_{pa1} [mV]	I_{pa1} [μA]	E_{pa2} [mV]	I_{pa2} [μA]	E_{pc} [mV]	I_{pc} [μA]
Dopamin (DA)	7	190	4,23	-	-	162	2,75
	5	320	4,28	-	-	271	3,67
	3	437	3,85	-	-	382	3,31
Homovanillinsäure (HVA)	7	426	3,50	-	-	168	1,08
	5	518	4,06	-	-	275	1,35
	3	616	2,83	664	0,68	380	1,94
Ascorbinsäure (AA)	7	8	0,60	-	-	-	-
	5	68	1,19	-	-	-	-
	3	173	3,87	-	-	-	-
Harnsäure (UA)	7	320	5,13	-	-	281	0,91
	5	447	12,85	-	-	384	0,89
	3	554	5,64	-	-	-	-

Tab. 8: Peakpotentiale und Peakströme aus Square-Wave-Voltammogrammen von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer Au_{1,0}-PEDOT-SPCE

Substanz	pH-Wert	E_{pa1} [mV]	I_{pa1} [μ A]	E_{pa2} [mV]	I_{pa2} [μ A]
Dopamin (DA)	7	177	65,34	-	-
	5	301	18,48	-	-
	3	408	11,83	-	-
Homovanillinsäure (HVA)	7	186	19,10	375	4,05
	5	310	14,42	-	-
	3	420	13,17	-	-
Ascorbinsäure (AA)	7	-38	1,62	-	-
	5	39	0,76	-	-
	3	149	0,84	-	-
Harnsäure (UA)	7	289	31,39	-	-
	5	403	7,26	-	-
	3	528	2,48	-	-

4.4.3 Bestimmung von Dopamin an Au-PEDOT-SPCE

Es wurde der Einfluss der Au-Nanopartikel-Modifizierung der PEDOT-SPCE aus Elektrolyten unterschiedlicher Goldsäurekonzentration auf die Sensitivität der Elektroden für DA untersucht. In Abb. 31 sind an einer Au_{1,0}-PEDOT-SPCE und in Abb. 32 an einer Au_{0,5}-PEDOT-SPCE SW-Voltammogramme in 0,1 M PhP unterschiedlicher Dopamin-Konzentrationen und die entsprechenden Kalibrierungskurven (Ausschnitt) dargestellt.

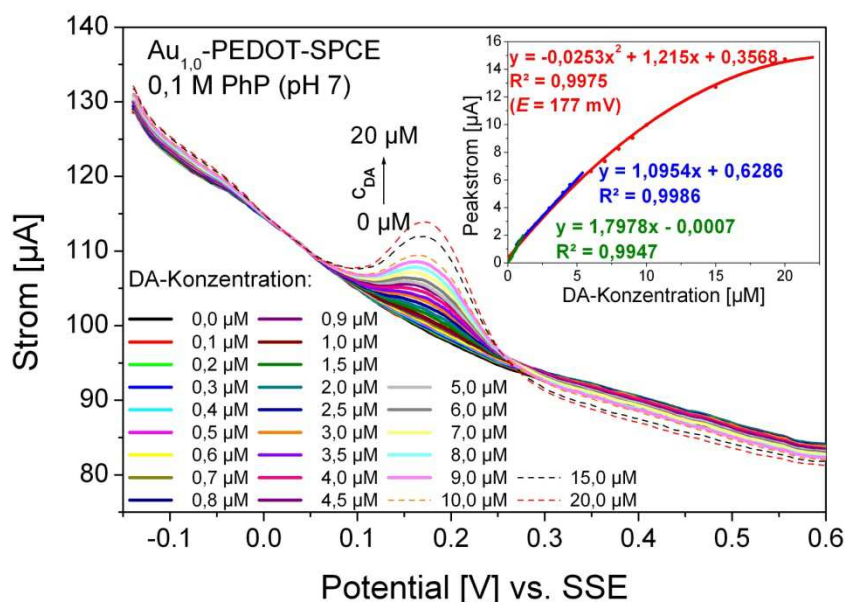


Abb. 31: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer Au_{1,0}-PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven

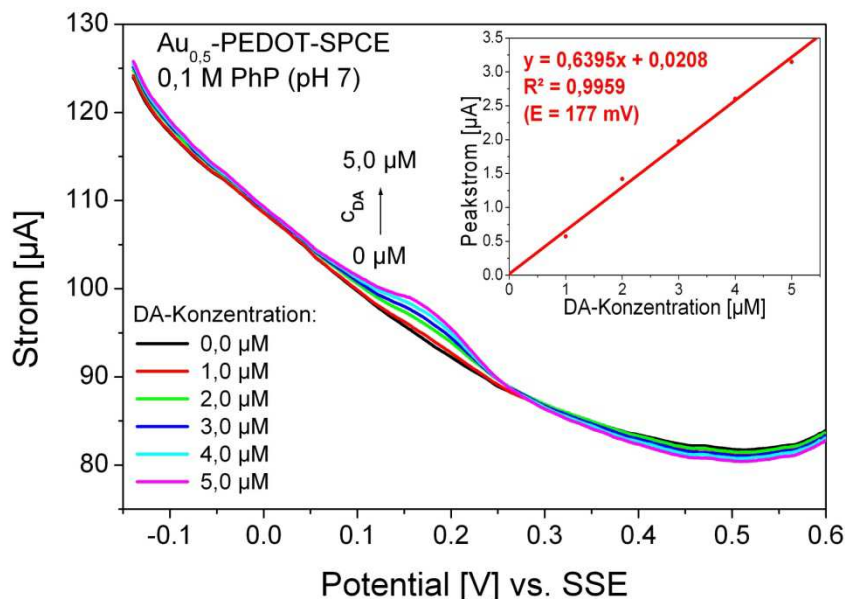


Abb. 32: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene DA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 7) an einer $\text{Au}_{0,5}$ -PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurve

Die ermittelte Sensitivität an der $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE (Abb. 31) für Dopamin betrug $1,80 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA im Konzentrationsbereich von $0 \mu\text{M}$ bis $1 \mu\text{M}$ DA bzw. $1,10 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA von $1 \mu\text{M}$ bis $5 \mu\text{M}$ DA. Der DA-Peakstrom in Abhängigkeit von der Konzentration über den gesamten Messbereich folgt der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,9975$ (Abb. 31, Ausschnitt). Durch die Au-Nanopartikel-Modifizierung konnte eine um das 3- bis 5-fache größere Sensitivität der Elektroden für Dopamin gegenüber PEDOT-SPCE erreicht werden. Im Vergleich zu den in der Dissertation von Tran erhaltenen Ergebnissen (bis zu $20 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA) [11] wurde aber eine wesentlich geringere Sensitivität ermittelt. Die Messergebnisse konnten somit an diesen Elektrodentyp nicht reproduziert werden. Die nach gleichen cyclovoltammetrischen Bedingungen modifizierte $\text{Au}_{0,8}$ -PEDOT-SPCE aus 0,8 mM Goldsäure-haltigen PhP-Lösungen ergaben fast identische Ergebnisse.

Für die $\text{Au}_{0,5}$ -PEDOT-SPCE (Abb. 32) konnte mit $0,64 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA nur ca. 50 % der Sensitivität im Vergleich mit der $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE im Messbereich $1 \mu\text{M}$ bis $5 \mu\text{M}$ DA ermittelt werden. Alle Au-PEDOT-Elektroden weisen im Vergleich mit PEDOT-SPCE eine um 2- bis 5-fache Vergrößerung der DA-Sensitivität im medizinisch relevanten Messbereich von $0,1$ bis $2 \mu\text{M}$ DA auf.

4.4.4 Bestimmung von HVA an $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE

Die Untersuchung der Sensitivität der $\text{Au}_{1,0}$ -PEDOT-SPCE für Homovanillinsäure erfolgte in 0,1 M PhP-Lösung mit pH 3 (Abb. 33) und im Modellanalyten (Abb. 34) mit Zusatz unterschiedlicher HVA-Konzentrationen ($0 \mu\text{M}$ bis $32,9 \mu\text{M}$) mittels SWV in einem Potentialbereich von $-0,15 \text{ V}$ bis $0,6 \text{ V}$. In den Ausschnitten der Abb. 33 und 34 sind die entsprechenden Kalibrierungskurven dargestellt.

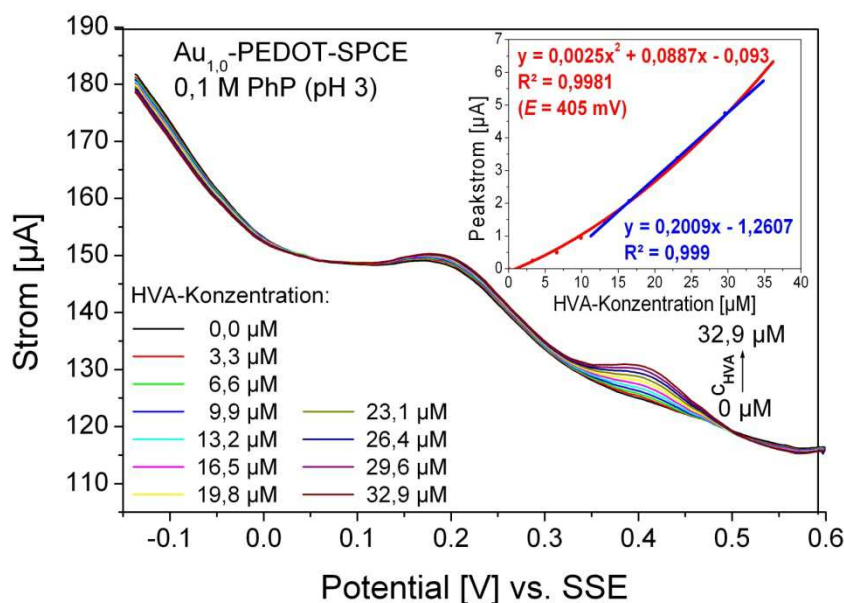


Abb. 33: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer $Au_{1,0}$ -PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven

In den unterschiedlichen Grundelektrolytlösungen konnte der DA-Peakstrom in Abhängigkeit von der Konzentration über den gesamten Messbereich nach quadratischen Gleichungen mit $R^2 = 0,998$ berechnet werden. Überraschenderweise waren die ermittelten Sensitivitäten für Homovanillinsäure in Phosphatpufferlösung und in der Gegenwart von Ascorbinsäure und Harnsäure im Konzentrationsbereich von 13,2 μM bis 32,9 μM HVA mit 0,20 μA/μM HVA identisch. Dies steht im Widerspruch zu den Messungen an der PEDOT-SPCE, bei der im Modellanalyten nur 50 % der HVA-Sensitivität erhalten wurde. Die Sensitivität von Au -PEDOT-SPCE für Homovanillinsäure nahm gegenüber PEDOT-SPCE um 75 % (0,1 M PhP) und 50 % (Modellanalyt) ab.

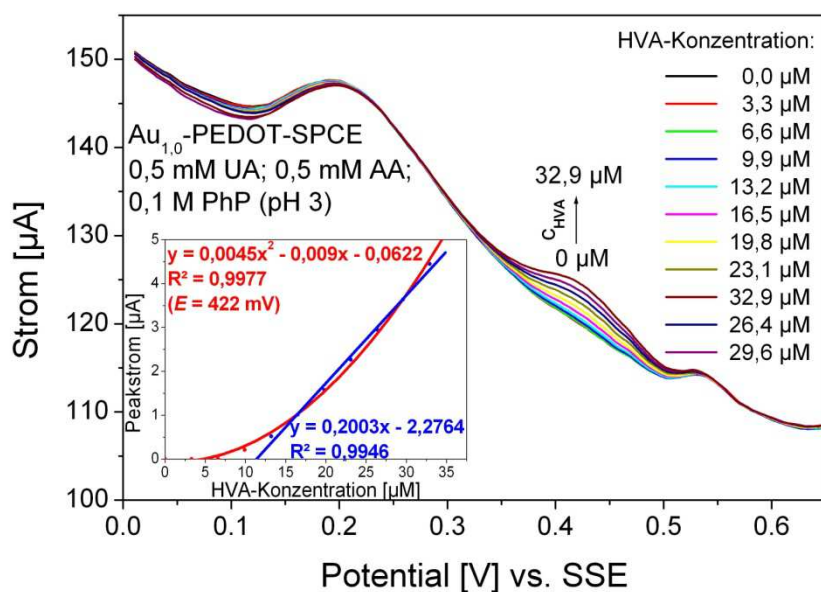


Abb. 34: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer $Au_{1,0}$ -PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven

4.5 Polyserotonin-modifizierte Elektroden

Auf Elektroden abgeschiedene Polymere aus ausgewählten biogenen Aminen (DA und 5-HT) können die Selektivität für gelöste biogene Amine sowohl erhöhen als auch erniedrigen [11]. Es wurden mit Polyserotonin modifizierte SPCE und PEDOT-SPCE hergestellt, charakterisiert und deren Sensitivität für DA und HVA untersucht und diskutiert. In Anlehnung an Tran [69] wurden die Polymerfilme an diesen Elektroden aus einer 0,5 mM Serotoninlösung mittels SWV-Oxidation ($E_{\text{step}} = 2 \text{ mV}$, $E_{\text{puls}} = 50 \text{ mV}$, $f = 5 \text{ Hz}$) in einem Potentialbereich von -0,2 V bis 0,8 V auf die Arbeitselektrodenoberflächen aufgebracht.

4.5.1 5-HT-SPCE

4.5.1.1 Abscheidung von Polyserotonin an SPCE

In der Abb. 35 ist die SW-voltammetrische Abscheidung eines Polyserotonin-Films auf eine Graphit-Dickschicht-Elektrode dargestellt. Im ersten Oxidations-Scan ist bei 338 mV der charakteristische Oxidationspeak von Serotonin ersichtlich.

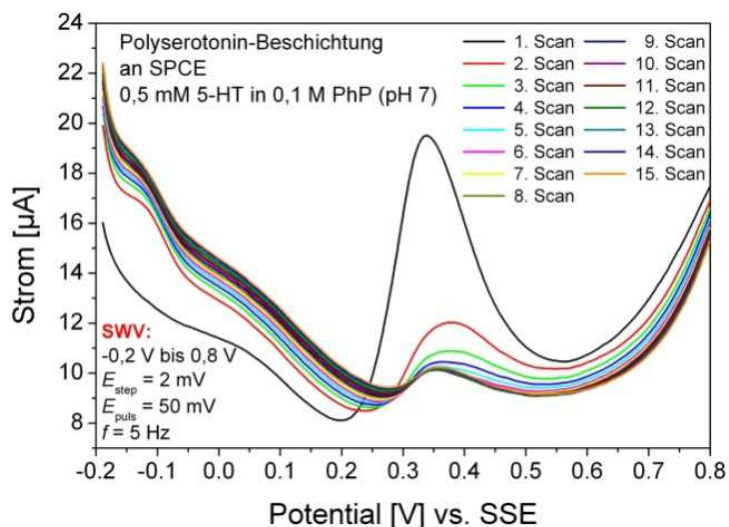


Abb. 35: Abscheidung eines Polyserotonin-Films auf eine SPCE aus einer gepufferten 0,5 mM Serotonin-Lösung mittels SWV

Zusätzlich zu diesem Peak tritt ab dem zweiten Scan ein Peak bei -114 mV auf. Bei diesem Potential werden Produkte, die bei der Oxidation des Serotonins und anschließenden Folgereaktionen entstehen, weiter oxidiert. Der Strom des Serotoninpeaks nimmt mit weiteren Scans ab, während er im Potentialbereich von -200 mV bis +200 mV zunimmt. Ab der 14. Oxidation bleibt der Strom im gesamten Messbereich konstant, was für *Tran* [70] ein Abbruchkriterium für die Abscheidung war. In Abb. 36, links sind die SW-Voltammogramme in 0,1 M PhP (pH 7) an einer SPCE vor und nach der Polyserotoninbeschichtung gegenübergestellt. Es ist ersichtlich, dass nach der Abscheidung einer stabilen Polyserotonin-Schicht der Grundstrom der modifizierten Elektrode im Vergleich zur SPCE zu höheren Strömen im gesamten Messbereich verschoben ist. Dabei ist im Potentialbereich von -0,15 V bis 0,1 V die Änderung fast um das 2-fache größer als im übrigen Potentialbereich.

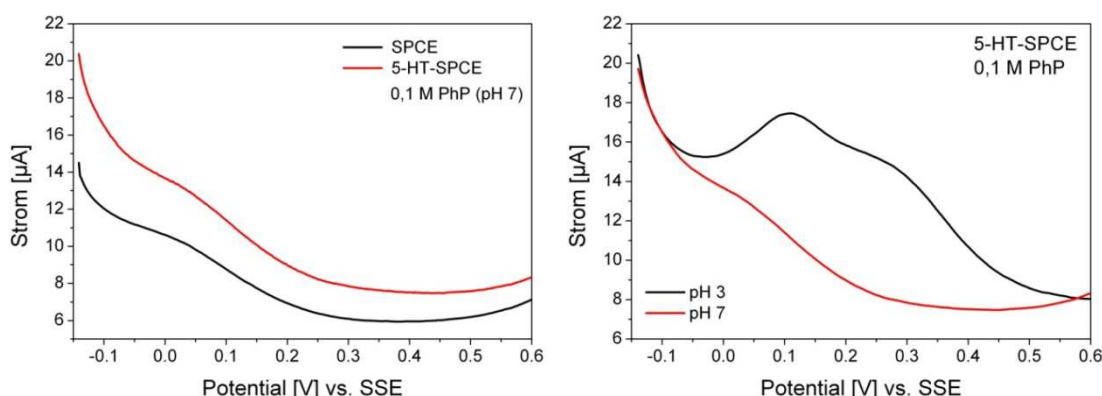


Abb. 36: SWV der SPCE vor und nach der Beschichtung mit einem Serotonin-Polymerfilm (links) und Vergleich der SWV in PhP-Lösungen unterschiedlicher pH-Werte (rechts)

In Abb. 36, rechts sind die SW-Voltammogramme (Grundlinie) einer 5-HT-SPCE in 0,1 M PhP-Lösung mit pH 7 bzw. pH 3 dargestellt. Erwartungsgemäß verschiebt sich im

Elektrolyten mit pH 3 die Grundlinie um ca. 240 mV in Richtung positiver Potentiale und weist aber beim Potential von 0,1 V einen Peak und im Potentialbereich von 0,3 bis 0,45 V einen steileren Stromabfall auf

4.5.1.2 Einfluss der Polyserotonin-Beschichtung auf die Messung von Ascorbinsäure und Harnsäure

An Polyserotonin-beschichteten Elektroden wurden SWV-Messungen in AA-haltigen und UA-haltigen (je 0,1 bis 0,5 mM) 0,1 M PhP durchgeführt. In den Abb. 37 bzw. 38 sind die SW-Voltammogramme der Ascorbinsäure- bzw. Harnsäure-Messung in einem Potentialbereich von -0,1 V bis 0,6 V an 5-HT-SPCE und SPCE dargestellt. Die gemessenen Peakströme sind in Tab. 9 gegenübergestellt. Im Vergleich zu den Messungen an SPCE konnte eine Abnahme des Messsignals von Harnsäure um 66 % und eine Erhöhung des Peakstromes von AA um das 4- bis 5-fache festgestellt werden. Der Peakstrom von Ascorbinsäure verschiebt sich in Richtung positiver Potentiale um etwa 140 mV. Durch eine Modifizierung von Elektroden mit Serotonin kann somit der störende Einfluss von Harnsäure auf die Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure verringert werden.

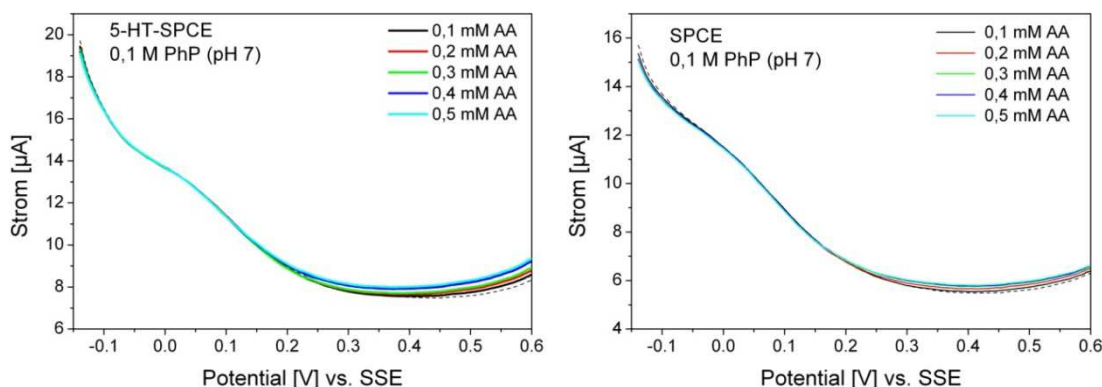


Abb. 37. SWV verschiedener AA-Konzentrationen an 5-HT-SPCE (links) und SPCE (rechts)

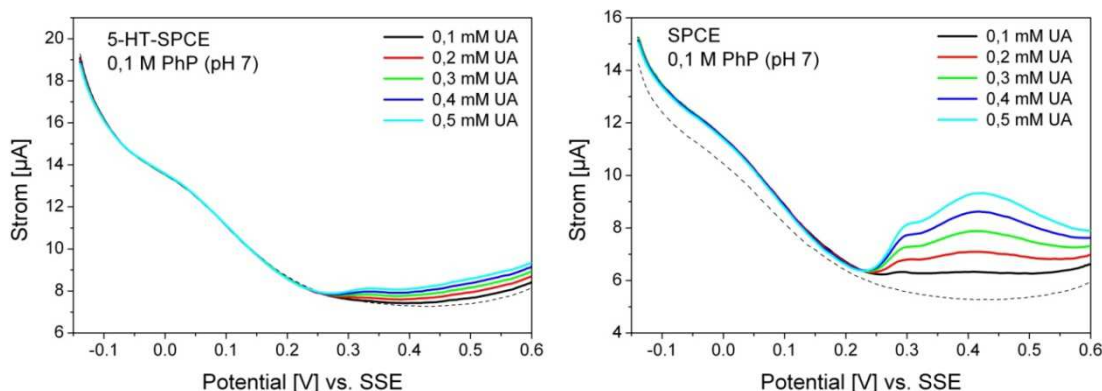


Abb. 38: SWV verschiedener UA-Konzentrationen an 5-HT-SPCE (links) und SPCE (rechts)

Tab. 9: Vergleich der Peakströme verschiedener AA- und UA-Konzentrationen an 5-HT-SPCE und SPCE

AA-Konzentration [mM]	I_{pa} (5-HT-SPCE) [μ A]	I_{pa} (SPCE) [μ A]
0,1	0,15	0,04
0,2	0,23	0,09
0,3	0,37	0,13
0,4	0,61	0,14
0,5	0,71	0,15
UA-Konzentration [mM]	I_{pa} (5-HT-SPCE) [μ A]	I_{pa} (SPCE) [μ A]
0,1	0,29	0,76
0,2	0,57	1,52
0,3	0,80	2,32
0,4	1,03	3,05
0,5	1,24	3,75

4.5.1.3 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an 5-HT-SPCE

In Abb. 39 sind die SW-Voltammogramme von 0,1 mM DA-, HVA-, AA- bzw. UA-haltigen 0,1 M PhP-Lösungen bei pH 7 dargestellt. Die entsprechenden Peakströme und Peakpotentiale sind in Tab. 10 aufgeführt. Der HVA-Peak bei 0,2 V tritt, wie bekannt, erst ab der zweiten Messung auf. Aus den erhaltenen Peakpotentialen der einzelnen bioaktiven Stoffe kann abgeleitet werden, dass DA und HVA (erster Strompeak) an dieser Elektrode ohne Beeinflussung von AA und UA bestimmt werden können.

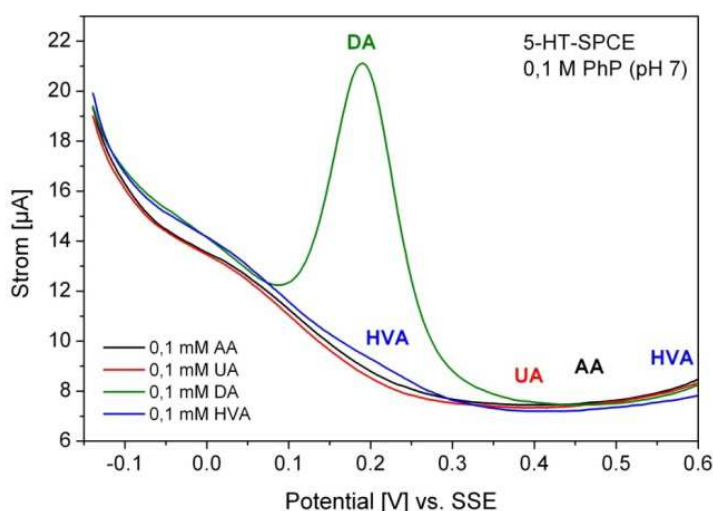


Abb. 39: SWV von je 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer 5-HT-SPCE bei pH 7

Tab. 10: Peakpotentiale und Peakströme von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP bei unterschiedlichen pH-Werten an einer 5-HT-SPCE bei pH 7

Substanz	E_{pa1} [mV]	I_{pa1} [μ A]	E_{pa2} [mV]	I_{pa2} [μ A]
Dopamin (DA)	190	11,80	-	-

Homovanillinsäure (HVA)	207	0,29	615	0,32
Ascorbinsäure (AA)	487	0,15	-	-
Harnsäure (UA)	320	0,29	-	-

Die SW-voltammetrischen Untersuchungen zur Ermittlung der Sensitivität der Polyserotonin-modifizierten Elektroden für Dopamin erfolgten im Modellanalyten (pH 7). In Abb. 40 sind die SW-Voltammogramme an 5-HT-SPCE mit Zusatz unterschiedlicher Dopamin-Konzentrationen (0 μM bis 10 μM) und entsprechender Kalibrierungskurve dargestellt. Im Konzentrationsbereich von 0 μM bis 5 μM DA beträgt die ermittelte Sensitivität der Elektrode für Dopamin 0,20 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA, die mit der der unmodifizierten SPCE identisch ist. Die Abhängigkeit des Peakstroms von der DA-Konzentration folgt über den gesamten Konzentrationsbereich der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,9911$.

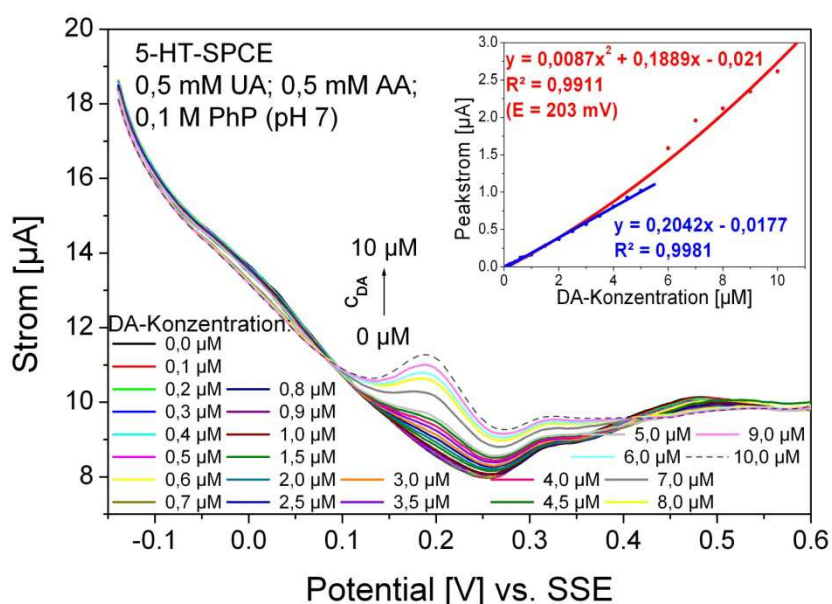


Abb. 40: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 7 an einer 5-HT-SPCE mit Kalibrierungskurven

Die Messungen zur Bestimmung der Sensitivität der 5-HT-modifizierten Elektroden für Homovanillinsäure erfolgten in einer 0,1 M Phosphatpufferlösung bei einem pH-Wert von 3. In der Abb. 41 sind die SW-Voltammogramme an 5-HT-SPCE in PhP mit unterschiedlichen Homovanillinsäure-Konzentrationen (0 μM bis 32,9 μM) und entsprechenden Kalibrierungskurven (Ausschnitt) dargestellt. Für den ersten Peak ($E = 443$ mV) besteht kein linearer Zusammenhang zwischen HVA-Konzentration und gemessenen Peakstrom über den gesamten Konzentrationsbereich. Im Konzentrationsbereich von 9,9 μM bis 29,6 μM HVA (lineares Verhalten für ersten Peak) beträgt die Sensitivität 0,023 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA. Für den zweiten Peak ($E = 686$ mV) wurde ein linearer Zusammenhang von Peakstrom und HVA-Konzentration mit 0,012 $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA ermittelt. Im

Vergleich mit der SPCE ist die Sensitivität der 5-HT-SPCE für den ersten Peak um etwa 40 % kleiner, dagegen sind die Sensitivitäten für den zweiten Peak identisch.

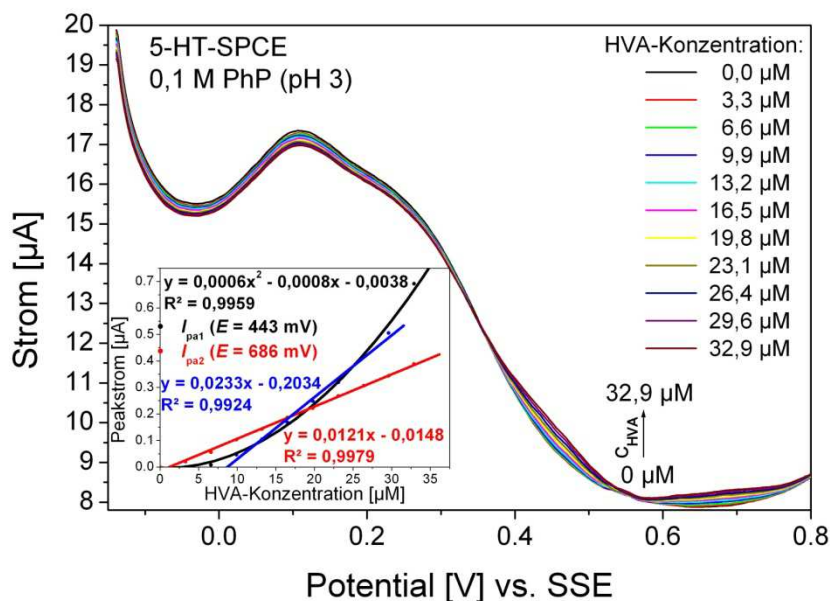


Abb. 41: Square-Wave-Voltammogramme für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer 5-HT-SPCE mit Kalibrierungskurven

4.5.2 5-HT-PEDOT-SPCE

4.5.2.1 Abscheidung von Polyserotonin an PEDOT-SPCE

Die Abscheidungsbedingungen von Polyserotoninfilm auf PEDOT-SPCE sind mit denen in Kapitel 4.5.1 beschriebenen identisch. In der Abb. 42 sind ausgewählte Scans der Abscheidung eines Polyserotonin-Films auf eine PEDOT-SPCE dargestellt

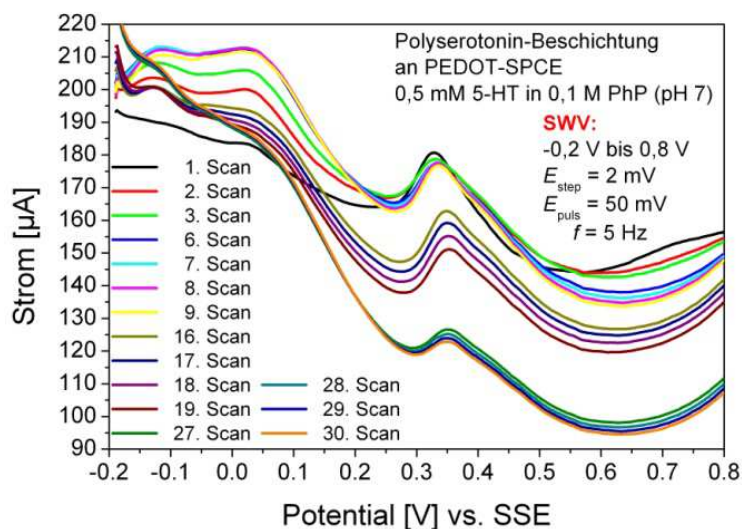


Abb. 42: Ausgewählte Scans der Modifizierung einer PEDOT-SPCE mit einem Polyserotonin-Film durch SWV

Im ersten Oxidations-Scan ist bei 329 mV der Oxidationspeak von Serotonin ersichtlich. Ab dem zweiten Scan tritt zusätzlich ein Peak bei -125 mV auf. Bis zum 7. Scan steigt der Strom im Bereich von -200 mV bis +200 mV an, während der Peakstrom des Serotonin-Peaks ($E = 329$ mV) etwas abnimmt (Abb. 54, oben links [Anhang S. A-5]). Ab dem 8. bis zum 17. Scan nimmt der Strom des Serotonin-Peaks und der Strom im Bereich von -200 mV bis +200 mV kontinuierlich ab (Abb. 54, oben rechts [Anhang S. A-5]). Vom 18. bis 26. Scan nimmt der Strom im Bereich von -200 mV bis +50 mV kontinuierlich zu während der Strom des Serotoninpeaks weiterhin abnimmt. Ab dem 27. Scan verändert sich der Strom im gesamten Messbereich nicht mehr wesentlich (Abb. 54, unten [Anhang S. A-5]). Damit wurde nach dem 27. Scan ein stabiler Zustand erhalten und die Abscheidung beendet [70].

In Abb. 43, links sind die SW-Voltammogramme in 0,1 M Phosphatpufferlösung vor und nach der Beschichtung mit Polyserotonin dargestellt. Die SW-Voltammogramme unterscheiden sich deutlich in der Differenz der Stromstärke (PEDOT-SPCE: ca. 45 μ A; 5-HT-PEDOT-SPCE: 130 μ A) über den gesamten Messbereich. In Messlösungen unterschiedlicher pH-Werte (pH 7, pH 3) erfolgt wie schon in Kapitel 4.5.1.1 festgestellt mit Abnahme des pH-Wertes eine Verschiebung des Voltammogrammes in Richtung positiver Potentiale. Die deutliche Peakbildung beim Potential +50 mV (pH 3) an der 5-HT-SPCE konnte an dieser Elektrode nicht festgestellt werden.

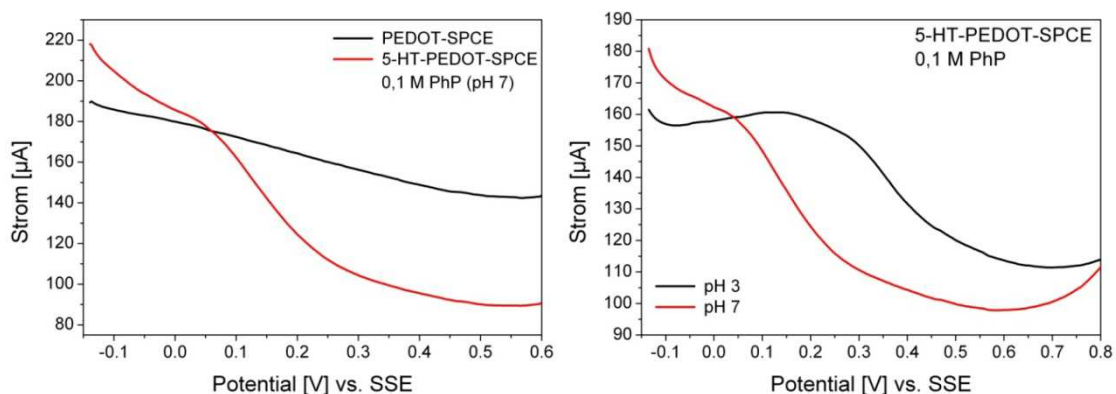


Abb. 43: SWV der PEDOT-SPCE vor und nach der Beschichtung mit einem Serotonin-Polymerfilm (links) und Vergleich der SWV in PhP-Lösungen unterschiedlicher pH-Werte (rechts)

4.5.2.2 Einfluss der Polyserotonin-Beschichtung auf die Messung von Ascorbinsäure und Harnsäure an 5-HT-PEDOT-SPCE

In Abb. 44 sind die SW-Voltammogramme der Ascorbinsäure- und Harnsäure-Messung an 5-HT-PEDOT-SPCE (links) und PEDOT-SPCE (rechts) im Potentialbereich von -0,15 V bis +0,6 V dargestellt. Die gemessenen Peakströme von UA der unterschiedlichen Elektroden sind in Tab. 11 aufgeführt.

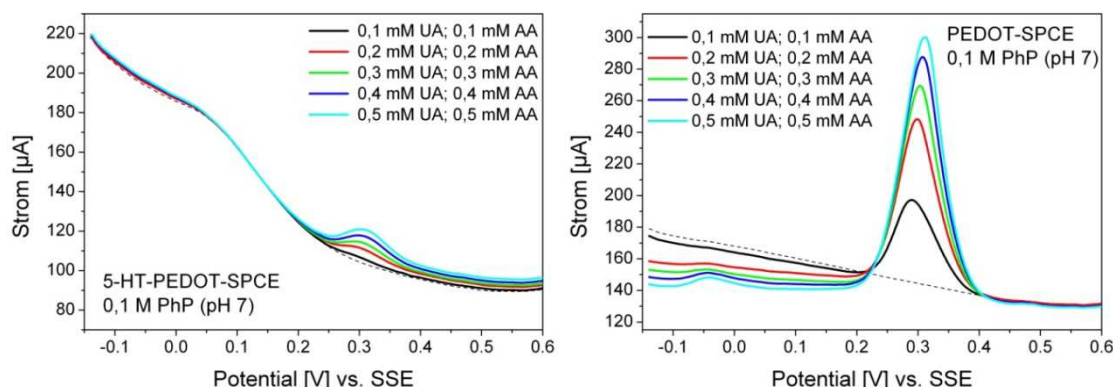


Abb. 44: SW-Voltammogramme in 0,1 M PhP (pH 7) verschiedener AA- und UA-Konzentrationen an 5-HT-PEDOT-SPCE (links) und PEDOT-SPCE (rechts)

Beim Vergleich der SW-Voltammogramme und der UA-Peakströme beider Elektroden wird die Verringerung des Messsignals von Harnsäure an der mit Polyserotonin modifizierten PEDOT-SPCE deutlich. Außerdem konnte bei diesem Elektrodentyp kein Signal der Oxidation von Ascorbinsäure im Messbereich detektiert werden. Damit können an 5-HT-PEDOT-SPCE DA und HVA ohne störendem Einfluss von Ascorbinsäure bzw. stark vermindertem Einfluss von Harnsäure detektiert werden.

Tab. 11: Vergleich der Peakströme verschiedener UA-Konzentrationen an 5-HT-PEDOT-SPCE und PEDOT-SPCE

UA-Konzentration [mM]	I_{pa} (5-HT-PEDOT-SPCE) [μ A]	I_{pa} (PEDOT-SPCE) [μ A]
0,1	2,44	52,05
0,2	7,30	103,87
0,3	10,41	125,32
0,4	13,96	143,81
0,5	17,34	156,79

4.5.2.3 Bestimmung von Dopamin und Homovanillinsäure an 5-HT-PEDOT-SPCE

Die SW-voltammetrischen Messungen zur Bestimmung der Sensitivität der 5-HT-PEDOT-SPCE für Dopamin erfolgten im Modellanalyt 0,1 M PhP; 0,5 mM AA; 0,5 mM UA mit Zusatz unterschiedlicher DA-Konzentrationen (0 μ M bis 10 μ M). In Abb. 45 sind die SW-Voltammogramme und die entsprechende Kalibrierungskurve (Ausschnitt) dargestellt.

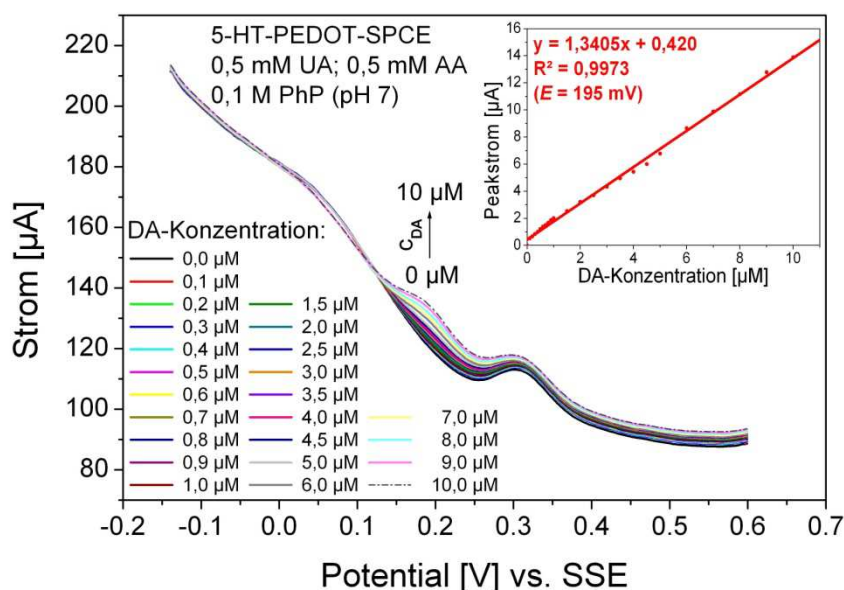


Abb. 45: SWV für verschiedene DA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 7 an einer 5-HT-PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurve

Die ermittelte Sensitivität für Dopamin beträgt $1,34 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA für Konzentrationen von $0 \mu\text{M}$ bis $10 \mu\text{M}$ DA. Es besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der zugegebenen DA-Konzentration und dem gemessenen Peakstrom für diese Elektrode in diesem Messbereich. Diese Elektrode wies damit im Vergleich zu den anderen modifizierten Elektroden wie PEDOT-SPCE ($0,34 \mu\text{A}/\mu\text{M}$); 5-HT-SPCE ($0,20 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ für 0 bis $5 \mu\text{M}$ DA) und Au-PEDOT-SPCE ($1,80 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ für 0 bis $1 \mu\text{M}$ DA bzw. $1,10 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ für $1 \mu\text{M}$ bis $5 \mu\text{M}$ DA) die höchste Sensitivität für DA über den gesamten Messbereich auf. Zudem stimmt diese Sensitivität sehr gut mit der von Tran ($1,389 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA) ermittelten überein [11].

Die Beschichtung von PEDOT-SPCE mit Polyserotonin erbrachte im Vergleich zur SPCE eine um das ca. 7-fach größere DA-Sensitivität, im Gegensatz dazu wurden an der 5-HT-SPCE im Vergleich mit der SPCE identische Strom-Konzentrationsverhältnisse erhalten. Aufgrund dieser Ergebnisse ist anzunehmen, dass die Beschaffenheit des Untergrundmaterials eine große Rolle spielt und der Polyserotonin-Film nicht vollständig die Elektrodenoberfläche abdeckt.

In den Abb. 46 bzw. 47 sind die SW-Voltammogramme an 5-HT-PEDOT-SPCE in $0,1 \text{ M}$ PhP bzw. in dem Modellanalyten (pH 3) mit unterschiedlichen Homovanillinsäure-Konzentrationen ($0 \mu\text{M}$ bis $32,9 \mu\text{M}$) und die entsprechenden Kalibrierungskurven dargestellt.

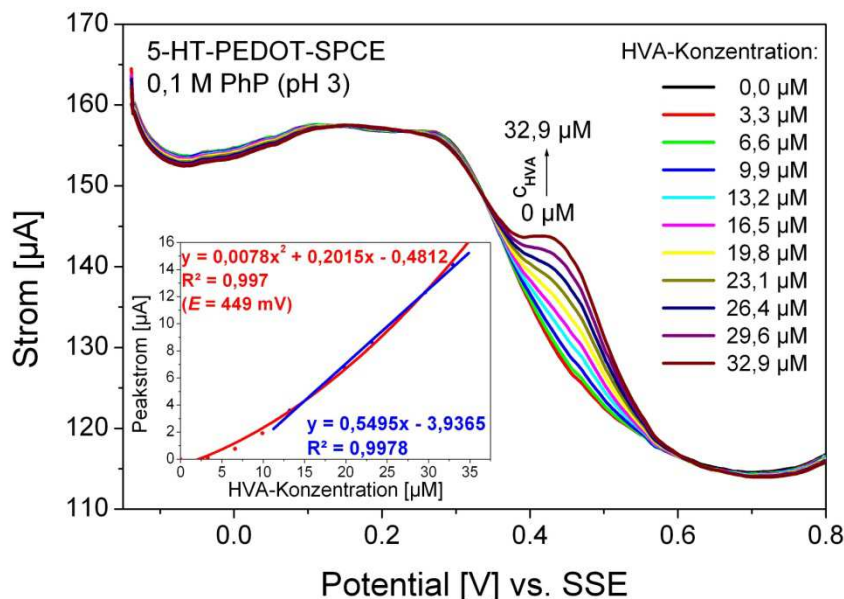


Abb. 46: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in 0,1 M PhP (pH 3) an einer 5-HT-PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven

In beiden Analyten wurde kein linearer Zusammenhang zwischen der HVA-Konzentration und den gemessenen Peakströmen über den gesamten Konzentrationsbereich erhalten.

In der PhP-Lösung folgt die Abhängigkeit der Peakströme von der HVA-Konzentration der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,997$ (Abb. 46, Ausschnitt). Die Sensitivität im linearen Bereich (13,2 µM bis 32,9 µM) beträgt hier 0,55 µA/µM HVA.

Bei der HVA-Messung in Gegenwart von Ascorbinsäure und Harnsäure konnte in dem gleichen Messbereich nur eine um ca. 50 % verminderte Sensitivität von 0,29 µA/µM HVA ermittelt werden. Über den gesamten Messbereich folgt die Abhängigkeit des Peakstroms von der Konzentration der polynomischen Regression zweiten Grades mit $R^2 = 0,9989$ (Abb. 47, Ausschnitt).

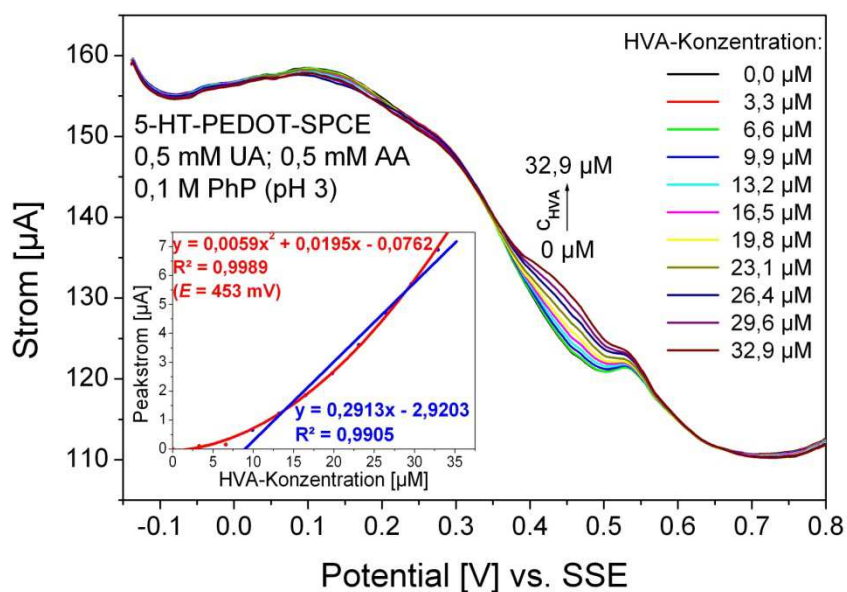


Abb. 47: SWV für verschiedene HVA-Konzentrationen in Gegenwart von je 0,5 mM AA und UA bei pH 3 an einer 5-HT-PEDOT-SPCE mit Kalibrierungskurven

Die Tatsache, dass die Sensitivität der Elektrode für HVA in Anwesenheit von AA und UA um etwa 50 % abnimmt, wurde auch an der SPCE und PEDOT-SPCE festgestellt. Im Vergleich zur PEDOT-SPCE ist die Sensitivität der 5-HT-PEDOT-SPCE in PhP und im Modellanalyten für HVA um etwa 25 % geringer, während sie im Gegensatz zur Au-PEDOT-SPCE um das 1,5-fache (in PhP) bzw. um ca. 50% (im Modellanalyten) erhöht ist.

8 Zusammenfassung und Ausblick

Die quantitative und qualitative Bestimmung von Dopamin und seinem Hauptabbauprodukt Homovanillinsäure im Urin ist von großem Interesse in der klinischen Diagnostik, da sie Marker für Kreislauf- und Nervenkrankheiten sowie für Tumore sein können.

Ziel dieser Arbeit war es, kohlenstoffbasierte Arbeitselektroden zur elektrodynamischen Bestimmung medizinisch relevanter Spezies einzusetzen. Es wurden Graphit-Dickschicht-Elektroden (SPCE) und pyrolytische Kohlenstoff-Elektroden (PyCE), auf den quantitativen Nachweis von Dopamin (DA) und Homovanillinsäure (HVA) in Anwesenheit von hohen Ascorbinsäure(AA)- und Harnsäurekonzentrationen (UA) erprobt. Dazu wurden die elektrodynamischen Verfahren Cyclovoltammetrie und Square-Wave-Voltammetrie eingesetzt.

Die Graphit-Dickschicht-Elektroden wurden durch verschiedene Verfahren elektrochemisch modifiziert. Das leitende Polymer Poly-3,4-Ethylendioxythiophen (PEDOT) konnte in einer definierten Schichtdicke mittels Chronocoulometrie auf die Oberfläche der Graphit-Dickschicht-Elektroden abgeschieden werden. Auf diese PEDOT-Elektroden konnten Gold-Nanopartikel durch cyclovoltammetrische Abscheidung aufgebracht werden. Sowohl die reinen Graphit-Dickschicht-Elektroden als auch PEDOT-modifizierte Elektroden wurden elektrochemisch durch Square-Wave-Voltammetrie mit einem Polymerfilm aus Serotonin beschichtet.

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen kann abgeleitet werden, dass die Square-Wave-Voltammetrie im Vergleich zur cyclischen Voltammetrie für die Ermittlung von niedrigen Dopamin- und Homovanillinsäure-Konzentrationen besser geeignet ist und wesentlich sensitivere Ergebnisse für diese erzielt werden konnten.

Ein großer Vorteil der pyrolytischen Kohlenstoff-Elektrode ist, dass sich schnell ein stabiler Grundstrom einstellt. Pyrolytische Kohlenstoff-Elektroden eignen sich aber nicht für die Detektion von Dopamin und Homovanillinsäure in Gegenwart von hohen Ascorbinsäure- und Harnsäurekonzentrationen, da die elektrochemischen Signale von DA und HVA durch eine Überlagerung mit den Oxidationspeaks von AA und UA erheblich gestört werden.

An Graphit-Dickschicht-Elektroden hatten sich die Strompeaks von Dopamin durch die von Ascorbinsäure und Harnsäure überlagert. Eine eindeutige Bestimmung war auch hier im Gemisch nicht möglich. Es wurde eine Sensitivität für Dopamin in Phosphatpuffer-Lösungen von $0,19 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ ermittelt. Die Sensitivität für den ersten Homovanillinsäure-Peak in der reinen PhP-Lösung beträgt $0,041 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA und für

den zweiten Peak $0,013 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA. Im Modellanalyt $0,1 \text{ M PhP}$; $0,5 \text{ mM AA}$; und $0,5 \text{ mM UA}$ ($\text{pH } 3$) beträgt die Sensitivität für den ersten Peak $0,017 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA und für den zweiten Peak $0,023 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA. Die ermittelte Sensitivität für den ersten HVA-Peak ist in der reinen Phosphatpufferlösung niedriger als im Modellanalyten während es sich für den zweiten Peak umgekehrt verhält, da das Signal offensichtlich von der Oxidation der AA und UA beeinflusst wird.

An den PEDOT-modifizierten Elektroden wurde eine deutliche Separation der Peaks von Dopamin bzw. Homovanillinsäure, Ascorbinsäure und Harnsäure erhalten. Somit ist es möglich, DA und HVA im Gemisch mit AA und UA zu bestimmen. Dopamin kann mit einer Sensitivität von $0,34 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ und Homovanillinsäure mit $0,40 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ im Modellanalyt aus je $0,5 \text{ mM AA}$ und UA ermittelt werden. Die PEDOT-Elektroden weisen zudem eine höhere Sensitivität für Dopamin (ca. 40 %) und für Homovanillinsäure (18-fache Erhöhung) im Vergleich zu reinen Graphit-Dickschicht-Elektroden auf. An der PEDOT-SPCE konnte die höchste Sensitivität für HVA von allen Elektroden ermittelt werden.

Dopamin und Homovanillinsäure (erster Oxidationspeak) werden im gleichen Potentialbereich umgesetzt. Bei mehreren voltammetrischen Messungen im gleichen Medium wirkt sich dies negativ auf eine quantitative Bestimmung von Dopamin aus.

Die Separation der Strompeaks der untersuchten Substanzen war bei den Au-PEDOT-SPCE und den PEDOT-SPCE identisch. Gold-Nanopartikel-modifizierte PEDOT-Elektroden wiesen die größte Sensitivität für Dopamin mit bis zu $1,8 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ auf. Die Sensitivität der Au-PEDOT-Elektroden für Homovanillinsäure ($0,20 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA) nahm hingegen im Vergleich zur PEDOT-SPCE ab.

Sowohl bei den PEDOT-SPCE als auch bei den Au-PEDOT-SPCE war eine Störung der Messung durch die Oxidation von AA zu verzeichnen.

An den Polyserotonin-beschichteten Elektroden 5-HT-SPCE und 5-HT-PEDOT-SPCE konnte eine Verringerung des Messsignals von Harnsäure festgestellt werden. Zudem konnte bei der Polyserotonin-PEDOT-Elektrode kein Signal der Oxidation von Ascorbinsäure im Messbereich detektiert werden. An beiden Elektrodentypen konnten Dopamin und Homovanillinsäure unabhängig von der Ascorbinsäure- und Harnsäure-Konzentration bestimmt werden. Die ermittelte Sensitivität der 5-HT-SPCE für Dopamin ($0,20 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ DA) sind mit denen der unmodifizierten SPCE identisch. Im Vergleich mit der SPCE ist die Sensitivität der 5-HT-SPCE für den ersten HVA-Peak ($0,023 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA) um etwa 40 % kleiner, dagegen sind die Sensitivitäten für den zweiten Peak identisch.

An der 5-HT-PEDOT-SPCE wurde die zweithöchste Sensitivität für DA mit $1,34 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ ermittelt. In Anwesenheit von UA und AA konnte an dieser Elektrode eine Sensitivität für HVA von $0,29 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ HVA ermittelt werden.

Die Beschichtung von PEDOT-SPCE mit Polyserotonin erbrachte im Vergleich zur SPCE eine um das ca. 7-fach größere DA-Sensitivität, im Gegensatz dazu wurden an der 5-HT-SPCE im Vergleich mit der SPCE identische Strom-Konzentrationsverhältnisse erhalten. Das Untergrundmaterial ist entscheidend für die sensitive Messerfassung an Polyserotonin-beschichteten Elektroden.

Nach mehreren Wochen Lagerung im Grundelektrolyt konnten an der 5-HT-SPCE reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. Die Polyserotonin-Beschichtung lässt sich leicht durch wiederholte Abscheidung aus einer 0,5 mM Serotonin-Lösung erneuern. Ein großer Vorteil dieser Elektrodenbeschichtung ist, dass sich Belegungen der Oberfläche mit Oxidationsprodukten der untersuchten Substanzen durch wenige SWV im Grundelektrolyten entfernen lassen.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich das Catecholamin Dopamin und sein Hauptabbauprodukt Homovanillinsäure mit dem elektrodynamischen Verfahren Square-Wave-Voltammetrie an modifizierten Graphit-Dickschicht-Elektroden bestimmen lassen. Aus den erhaltenen Messergebnissen der untersuchten Elektroden lässt sich ableiten, dass die Polyserotonin-beschichteten PEDOT-Elektroden das größte Potential für den quantitativen Nachweis von Dopamin und Homovanillinsäure und Gegenwart von hohen Ascorbinsäure- und Harnsäurekonzentrationen aufweisen, da die störenden Signale von AA und UA vermindert werden konnten.

In weiterführenden Arbeiten könnten die 5-HT-PEDOT-SPCE mit Gold-Nanopartikeln beschichtet werden, um eventuell die Sensitivität dieser Elektroden für Dopamin zu erhöhen. Durch diese Modifizierung könnte zusätzlich das Signal der Homovanillinsäure-Oxidation vermindert werden, um die Dopamin-Konzentration weitgehend unabhängig von der HVA zu bestimmen.

Ein weiterer Forschungsansatz wäre eine Modifizierung der pyrolytischen Kohlenstoff-Elektroden. Diese Elektroden zeichnen sich durch eine hohe Reproduzierbarkeit der Messungen aus, aber das elektrochemische Signal von Dopamin sowie Homovanillinsäure wird durch hohe Konzentrationen von Ascorbinsäure und Harnsäure gestört, so dass keine quantitativen Bestimmungen im klinisch relevanten Bereich erfolgen konnten. Durch eine Beschichtung der Arbeitselektrodenoberfläche mit einem Poly-serotonin-Film könnte die Sensitivität der Elektrode für Dopamin und Homovanillinsäure erhöht werden, da diese Modifizierung bei anderen Elektrodenarten erfolgreich das elektrochemische Signal der Harnsäure verringert hat.

Literaturverzeichnis

- [1] Buddecke, Eckhart; Fischer, Michael: *Pathophysiologie, Pathobiochemie, klinische Chemie*. Berlin, De Gruyter Verlag, 1992, S. 192f
- [2] Fallert-Müller; Angelika (Red.): *Lexikon der Biochemie – Teil 1, Sonderausgabe für Weltbild*. 1. Auflage, München, Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, 1999/2000, S. 173
- [3] <http://www.imd-berlin.de/einsender-aktuellefachinformationen-katecholamine.htm>, verfügbar am 26.09.2011
- [4] Horn, Florian: *Biochemie des Menschen – Das Lehrbuch für das Medizinstudium*. 4. Auflage, Stuttgart, Thieme Verlag, 2009, S. 431
- [5] Schmoll, Hans-Joachim; Höffken, Klaus; Possinger, Kurt: *Kompendium internistischer Onkologie – Therapiekonzepte maligner Tumoren*. 4. Auflage, Heidelberg, Springer Medizin Verlag, 2006, S. 154
- [6] Schaps, Klaus-Peter; Kessler, Oliver; Fetzner, Ulrich: *Das Zweite – kompakt: Grundlagen – GK 2*. Heidelberg, Springer Verlag, 2008, S. 339
- [7] Bruhn, Hans D.; Junker, Ralf; Schäfer, Heiner; Schreiber, Stefan: *Labor Medizin – Indikationen, Methodik und Laborwerte; Pathophysiologie und Klinik*, 3. Auflage, Stuttgart, Schattauer Verlag, 2011, S. 197
- [8] Renner, Karin: *Poly-N-vinylamid-modifizierte Elektrode als Komponente eines spektroelektrochemischen Sensors für Catecholderivate*. -2005, -139 S. , Aachen, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Fakultät Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 23
- [9] Janisch, Jana: *Cyclovoltammetrische Bestimmung elektrochemischer Parameter von Ferrocen und einem Bis-Ferrocen mit Platinelektroden*. – 2010. -73 S., Tübingen, Universität Tübingen, Wissenschaftliche Prüfung, S. 8

- [10] Bestry, Joanna: *Neue Konzepte in der Voltammetrie –Tropfende Kohleelektrode und ionische Flüssigkeiten*. -2011. -198 S., Berlin, Freie Universität Berlin, Fachbereich Biologie/Chemie/ Pharmazie, Dissertation, S. 23f
- [11] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 124f
- [12] Buchberger, Wolfgang: *Elektrochemische Analyseverfahren: Grundlagen, Instrumentation, Anwendungen*. Heidelberg, Spektrum akademischer Verlag, 1998, S. 65
- [13] Hutson, Peter H.; Curzon, Gerald: *Monitoring in vivo of transmitter metabolism by electrochemical methods*. Biochem. J. (1983) 211, 1-12, S. 2
- [14] Geckeler, Kurt E.; Eckstein, Heiner (Hrsg.): *Bioanalytische und biochemische Labormethoden*. Braunschweig, Vieweg, 1998, S. 328
- [15] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 6
- [16] Hamann , Carl H.; Vielstich, Wolf: *Elektrochemie*. 3. Auflage, Weinheim, WILEY-VCH , 1998, S. 262
- [17] Geckeler, Kurt E.; Eckstein, Heiner (Hrsg.): *Bioanalytische und biochemische Labormethoden*. Braunschweig, Vieweg, 1998, S. 329
- [18] Hamann, Carl H.; Vielstich, Wolf: *Elektrochemie*. 3. Auflage, Weinheim, WILEY-VCH , 1998, S. 258
- [19] Gründler, Peter: *Chemische Sensoren – Eine Einführung für Naturwissenschaftler und Ingenieure*. Berlin, Springer-Verlag, 2004, S. 63
- [20] Geckeler, Kurt E.; Eckstein, Heiner (Hrsg.): *Bioanalytische und biochemische Labormethoden*. Braunschweig, Vieweg, 1998, S. 341

- [21] Hamann, Carl H.; Vielstich, Wolf: *Elektrochemie. 3. Auflage*, Weinheim, WILEY-VCH , 1998, S. 259f
- [22] Wang, Joseph: *Analytical Electrochemistry. 3. Auflage*, Hoboken, WILEY-VCH, 2006, S. 80f
- [23] Hamann, Carl H.; Vielstich, Wolf: *Elektrochemie. 3. Auflage*, Weinheim, WILEY-VCH , 1998, S. 521
- [24] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe. -2011, -157 S*, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 8
- [25] Geckeler, Kurt E.; Eckstein, Heiner (Hrsg.): *Bioanalytische und biochemische Labormethoden*. Braunschweig, Vieweg, 1998, S.350f
- [26] Bott, Adrian W.; Heineman, William R.: *Chronocoulometry. Current Separations* (2004), 20:4, S. 124
- [27] Fallert-Müller; Angelika (Red.): *Lexikon der Biochemie – Teil 1, Sonderausgabe für Weltbild. 1. Auflage*, München, Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, 1999/2000, S. 271
- [28] Horn, Florian: *Biochemie des Menschen – Das Lehrbuch für das Medizinstudium. 4. Auflage*, Stuttgart, Thieme Verlag, 2009, S. 430
- [29] Doenecke, Detlef; Koolman, Jan; Fuchs, Georg; Gerok, Wolfgang: *Karlsons Biochemie und Pathobiochemie. 15. Auflage*, Stuttgart, Thieme Verlag, 2005. S. 564
- [30] Löffler, Georg; Petrides, Petro E.; Heinrich, Peter C.: *Biochemie & Pathobiochemie. 8. Auflage*, Heidelberg, Springer Medizin Verlag, 2007, S. 697
- [31] Fallert-Müller; Angelika (Red.): *Lexikon der Biochemie – Teil 1, Sonderausgabe für Weltbild. 1. Auflage*, München, Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, 1999/2000, S. 95

- [32] Schneemann, Hubert; Wurm, Gisela (Hrsg.): *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis – Folgeband 1*. 5. Auflage, Heidelberg, Springer Verlag, 1995, S. 39
- [33] Müller, Manfred J.: *Ernährungsmedizinische Praxis: Methoden, Prävention, Behandlung*. 2. Auflage, Heidelberg, Springer Medizin Verlag, 2007, S. 159
- [34] Belitz, Hans-Dieter; Grosch, Werner; Schieberle, Peter: *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 5. Auflage, Berlin, Springer Verlag, 2001, S. 410
- [35] Löffler, Georg; Petrides, Petro E.; Heinrich, Peter C.: *Biochemie & Pathobiochemie*. 8. Auflage, Heidelberg, Springer Medizin Verlag, 2007, S. 600
- [36] Fallert-Müller, Angelika (Red.): *Lexikon der Biochemie – Teil 1, Sonderausgabe für Weltbild*. 1. Auflage, München, Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, 1999/2000, S. 434
- [37] http://www.laborlexikon.de/Lexikon/Infoframe/h/Harnsaure_Urin.htm, verfügbar am 26.09.2011
- [38] Renner, Karin: *Poly-N-vinylamid-modifizierte Elektrode als Komponente eines spektroelektrochemischen Sensors für Catecholderivate*. -2005, -139 S. , Aachen, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Fakultät Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 26
- [39] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 29
- [40] Prasad Sudhakara, K.; Muthuraman, G.; Zen, M. J.: *The role of oxygen functionalities and edge plane sites on screen-printed carbon electrodes for simultaneous determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid*. *Electrochemistry Communications* (2008), 10 (4), 559-563
- [41] Câmpean, Anuța; Terțiș, Mihaela; Săndulescu, Robert: *Electrochemical behavior of some purine derivatives on carbon based electrodes*. *Central European Journal of Chemistry* (2011), 9 (3), 466-473

- [42] Łuczak, Teresa: *Preparation and characterization of the dopamine film electrochemically deposited on a gold template and its applications for dopamine sensing in aqueous solution*. *Electrochimica Acta* (2008), 53 (19), 5725–5731
- [43] Díaz, P. et al.: *Electrochemical Self-Assembly of Melanin Films on Gold*. *Langmuir* (2005), 21, 5924-5930
- [44] Mulla, Ismael AL; Lowry, John P.; Serra, Pier Andrea; O'Neill, Robert D.: *Development of a voltammetric technique for monitoring brain dopamine metabolism: compensation for interference caused by DOPAC electrogenerated during homovanillic acid detection*. *Analyst* (2009), 134, 893-898, S. 895
- [45] Renner, Karin: *Poly-N-vinylamid-modifizierte Elektrode als Komponente eines spektroelektrochemischen Sensors für Catecholderivate*. -2005, -139 S., Aachen, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Fakultät Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 27f
- [46] Renner, Karin: *Poly-N-vinylamid-modifizierte Elektrode als Komponente eines spektroelektrochemischen Sensors für Catecholderivate*. -2005, -139 S., Aachen, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Fakultät Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 23f
- [47] Renner, Karin: *Poly-N-vinylamid-modifizierte Elektrode als Komponente eines spektroelektrochemischen Sensors für Catecholderivate*. -2005, -139 S., Aachen, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Fakultät Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 3f
- [48] Peipmann, Ralf: *In situ Charakterisierung der viskoelastischen und elektrochemischen Eigenschaften von Poly(3,4-ethylenedioxythiophen)*. -2011, -168 S., Dresden, Technische Universität Dresden, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 5
- [49] Hain, Jessica: *Funktionalisierte Polymerkomposite auf Basis von Poly(3,4-ethylenedioxythiophen) und Gold*. -2008, -170 S., Dresden, Technische Universität Dresden, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 6f

- [50] Roemer, Mario: *Elektrochemo- und mikromechanisches Verhalten elektronisch leitfähiger Polymere*. -2004, -115 S., Kassel, Universität Kassel, Fachbereich Naturwissenschaften, Dissertation, S. 18
- [51] Balamurugan, A.; Chen, Shen-Ming: *Poly(3,4-ethylenedioxythiophene-co-(5-amino-2-naphthalenesulfonic acid))(PEDOT-PANS) film modified glassy carbon electrode for selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid*. *Analytica Chimica Acta* (2007), 596, 92–98, S. 93
- [52] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S., Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 23
- [53] Kumar, S. S.; Mathiyarasu, J.; Yegnaraman, V.; Phani, K.L.N.: *Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid on poly (3,4-ethylenedioxythiophene) modified glassy carbon electrode*. *J Solid State Electrochem* (2006), 10, 905–913, S. 54
- [54] Fallert-Müller; Angelika (Red.): *Lexikon der Biochemie – Teil 2, Sonderausgabe für Weltbild*. 1. Auflage, München, Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, 1999/2000, S. 339
- [55] Doenecke, Detlef; Koolman, Jan; Fuchs, Georg; Gerok, Wolfgang: *Karlsons Biochemie und Pathobiochemie*. 15. Auflage, Stuttgart, Thieme Verlag, 2005. S. 565
- [56] Sarada, B.V.; Rao, Tata N.; Tryk, D.A.; Fujishima, A.: *Electrochemical Oxidation of Histamine and Serotonin at Highly Boron-Doped Diamond Electrodes*. *Anal. Chem.* (2000), 72 (7), 1632-1638, S. 1636
- [57] Tian, Xianqing et al.: *Simultaneous determination of l-ascorbic acid, dopamine and uric acid with gold nanoparticles– α -cyclodextrin–graphene-modified electrode by square wave voltammetry*, *Talanta* (2012), 93, 79– 85, S. 79
- [58] Li, Jing; Lin, Xiangqin: *Simultaneous determination of dopamine and serotonin on gold nanocluster/overoxidized-polypyrrole composite modified glassy carbon electrode*. *Sensors and Actuators B* (2007), 124, 486–493, S. 487

- [59] Yang, Zhousheng et al.: *The nano-Au self-assembled glassy carbon electrode for selective determination of epinephrine in the presence of ascorbic acid*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 54 (2007) 230–235
- [60] Guang-Zhi, Hu; Zhang, Da-Peng; Wu, Wei-Li; Yang, Zhou-Sheng: *Selective determination of dopamine in the presence of high concentration of ascorbic acid using nano-Au self-assembly glassy carbon electrode*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (2008), 62, 199–205
- [61] Liu, Xianggang et al.: *Multi-walled carbon nanotube-chitosan/poly(amidoamine)/DNA nanocomposite modified gold electrode for determination of dopamine and uric acid under coexistence of ascorbic acid*, Journal of Electroanalytical Chemistry (2011), 654, 72–78
- [62] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 39
- [63] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 46f
- [64] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 36
- [65] Majer, Elisabeth: *Charakterisierung von edelmetall- und graphitbasierten Elektrodenmaterialien mittels voltammetrischer Untersuchungen und Impedanzmessungen*. -2012, -22 S., Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät Mathematik/Naturwissenschaften/Informatik, Praxisarbeit, S. 10
- [66] https://www.innomats.de/product_info.php?products_id=43, verfügbar am 08.10.2012
- [67] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 87

- [68] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 41

- [69] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 34

- [70] Tran, Thuy Nga: *Modifizierte Elektroden zum elektrochemischen Nachweis bioaktiver Stoffe*. -2011, -157 S, Dresden, Technische Universität, Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften, Dissertation, S. 108

- [71] Riegel, Helge; Pietsch , Michael; Mross, Klaus: *Vademecum Labormedizin*. 7. Auflage, Berlin, Springer Verlag, 2003, S. 74

Anhang

Tab. 12: Referenzwerte für DA, HVA, AA und UA in 24-Stunden-Sammelurin für Erwachsene [7, 33, 37, 71]

Substanz	Normwert	
	μmol	mg
Dopamin (DA)	1,24 – 2,94	0,19 – 0,45
Homovanillinsäure (HVA)	11 – 41	2,0 – 7,4
Ascorbinsäure (AA)	45 – 570	7,9 – 100,4
Harnsäure (UA)	< 4759	< 800

Tab. 13: Übersicht der verwendeten Chemikalien

Chemikalien	Hersteller	Reinheit
3,4-Ethylendioxythiophen (EDOT)	Aldrich	n.A. ¹
Dinatriumhydrogenphosphat-2-hydrat	Riedel-de Haën	≥ 99,5 %
Dopaminhydrochlorid	Fluka	≥ 98,5 %
Harnsäure	Sigma	≥ 99 %
Homovanillinsäure	Sigma	f.R. ²
L(+)-Ascorbinsäure	VEB Laborchemie Apolda	≥ 99,5 %
Lutensit TC-CS-40 (Natriumisopropylbenzolsulfonat)	BTC Speciality Chemical Distribution GmbH	n.A. ¹
Natriumdihydrogenphosphat-1-hydrat	VEB Laborchemie Apolda	≥ 99 %
ortho-Phosphorsäure	Fluka	85 %ig
Serotoninhydrochlorid	Sigma	≥ 98 %
Tetrachloraurat(III)hydrat	Riedel-de Haën	ca. 50 %

¹ keine Angabe

² fluorimetrisches Reagenz

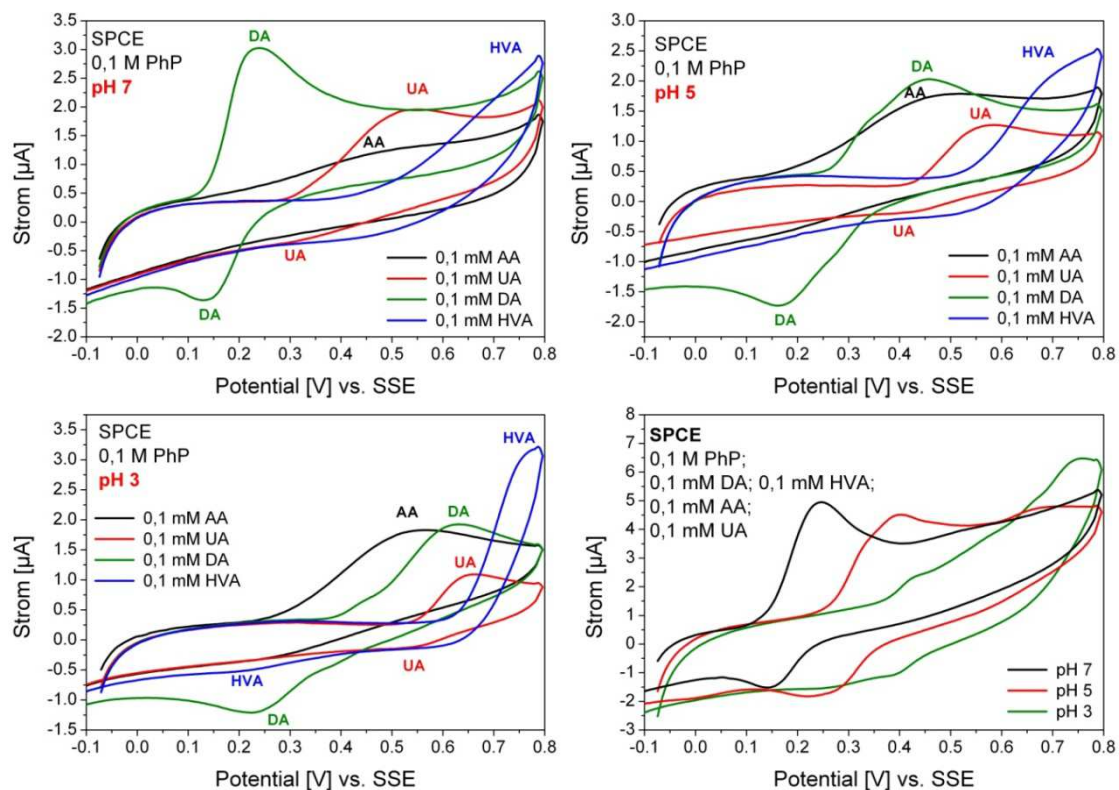


Abb. 48: CV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); CV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)

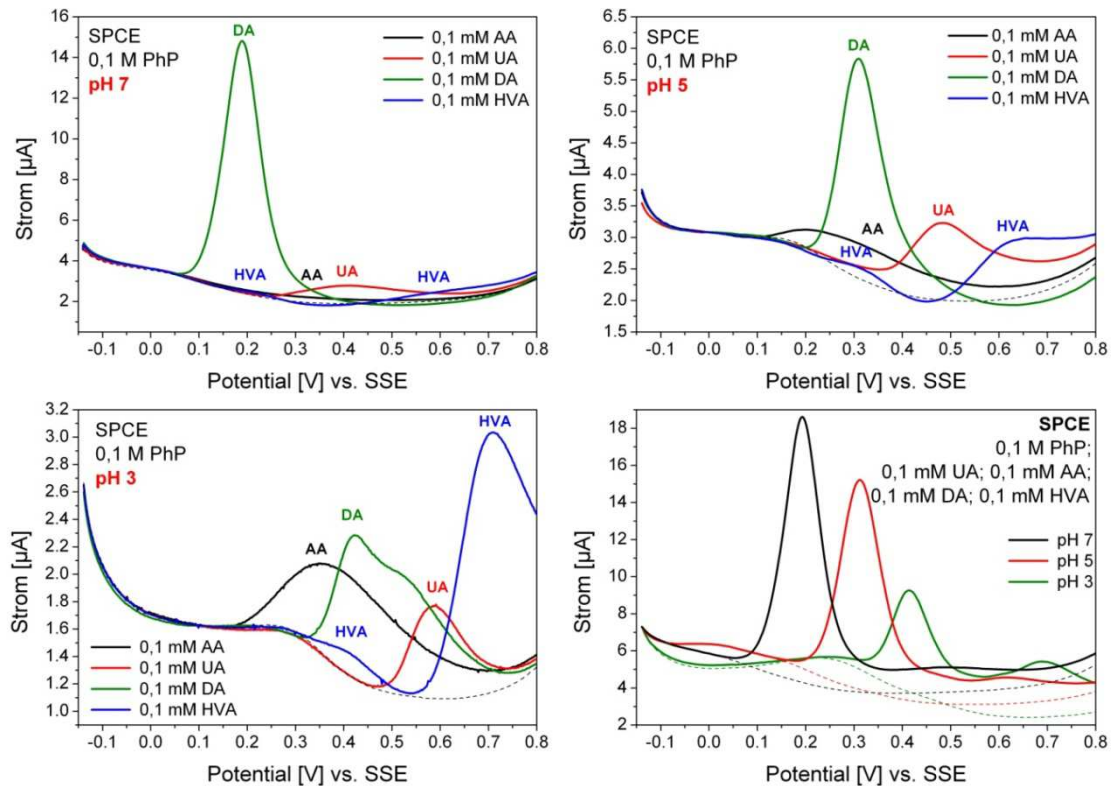


Abb. 49: SWV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); SWV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)

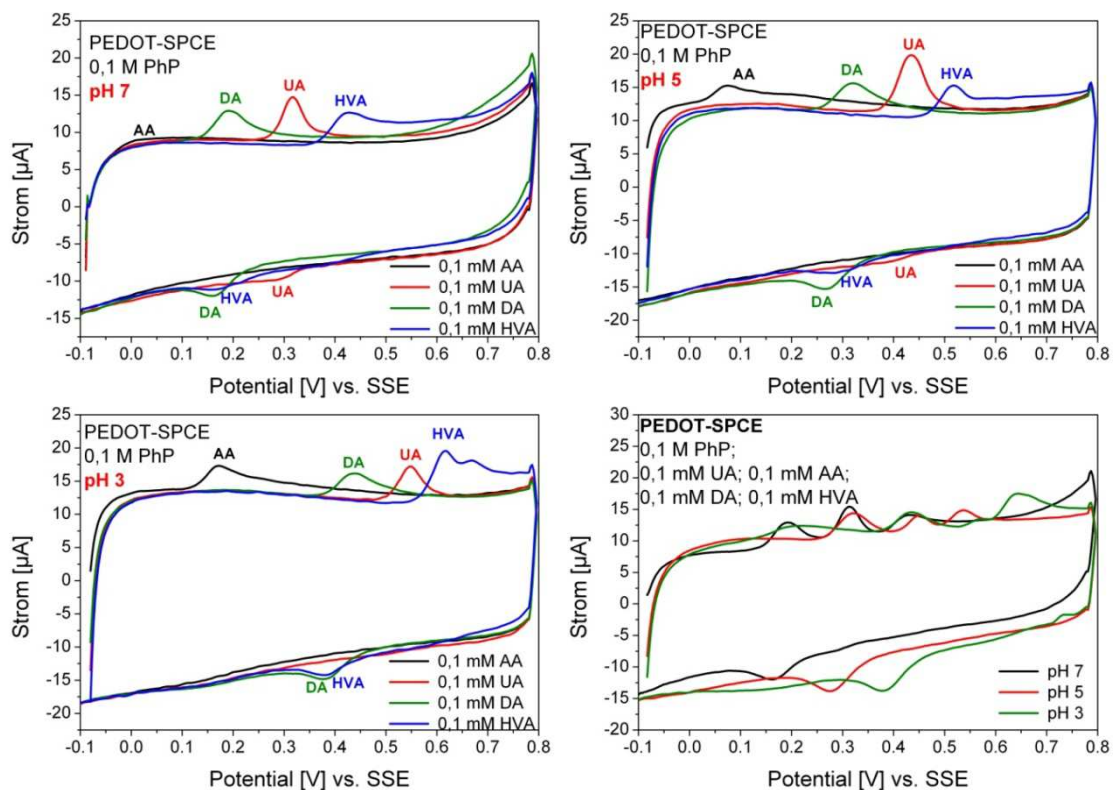


Abb. 50: CV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); CV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)

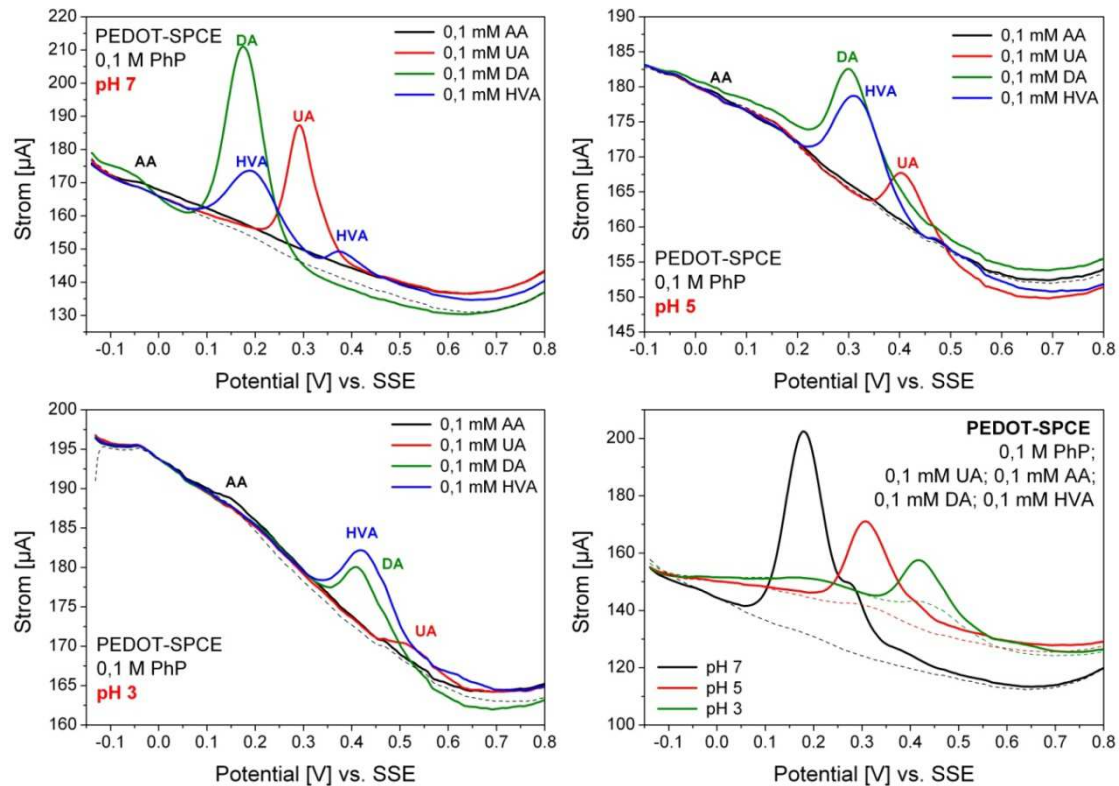


Abb. 51: SWV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); SWV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA oder UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)

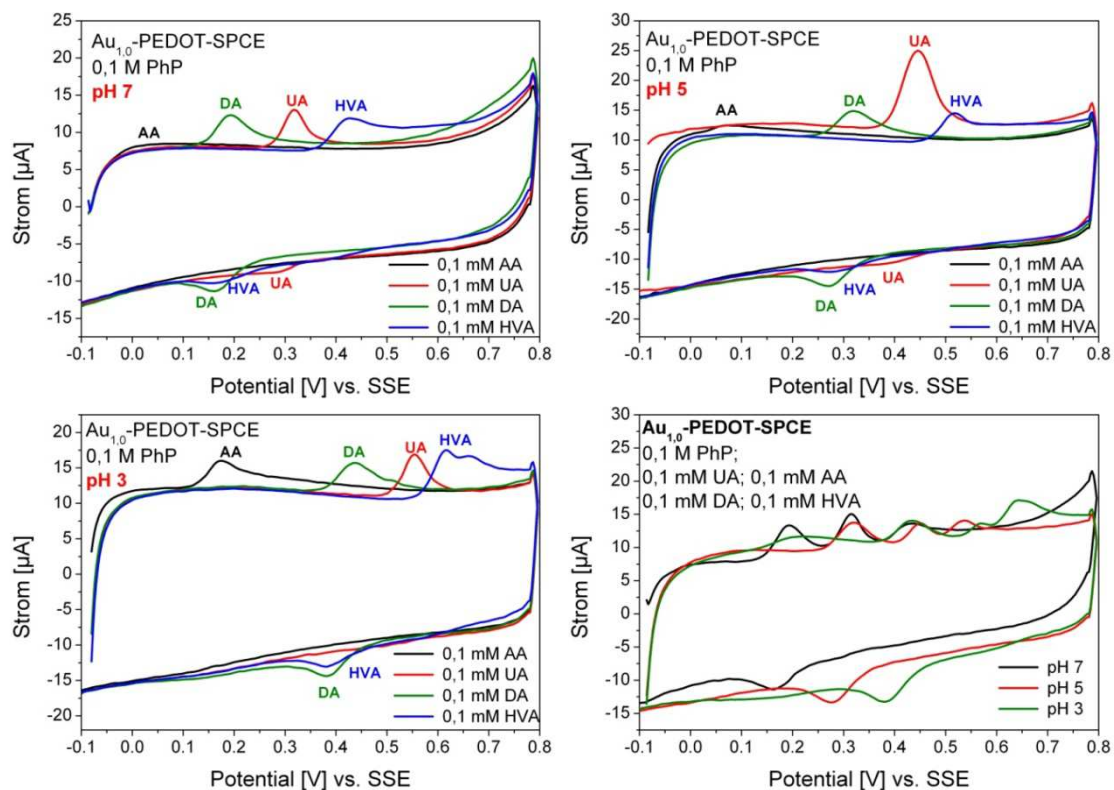


Abb. 52: CV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer $Au_{1,0}$ -PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); CV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)

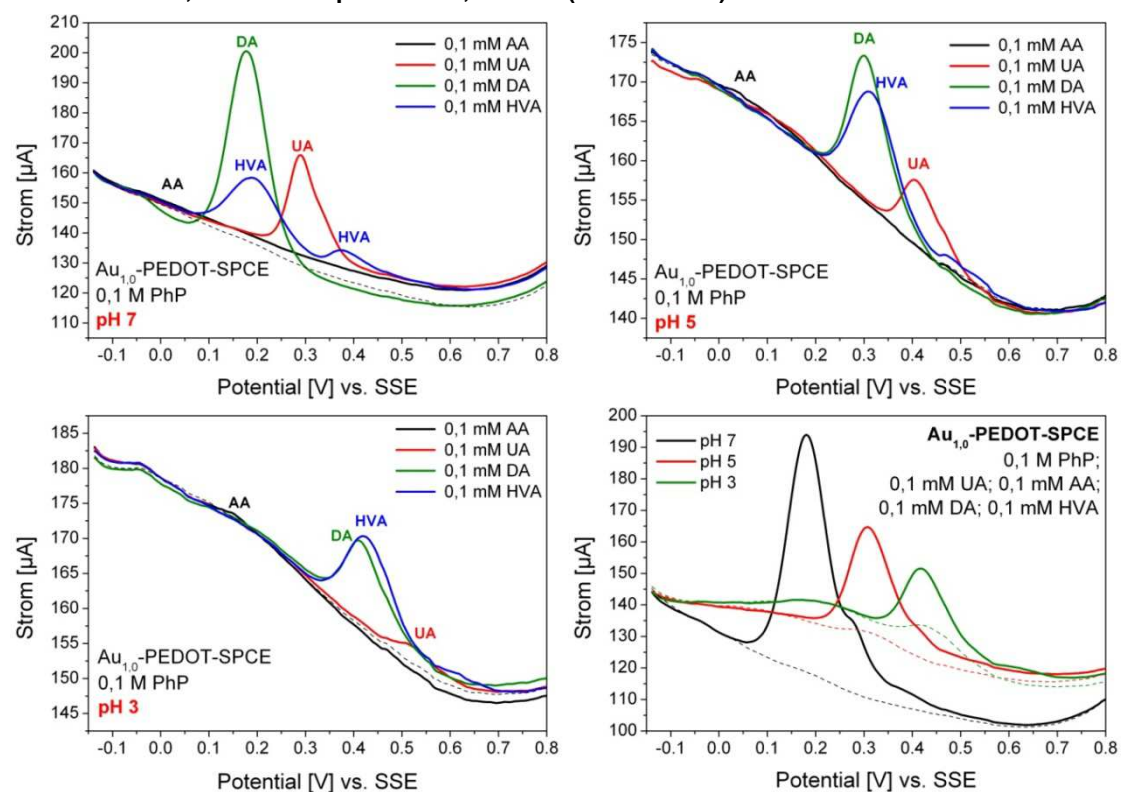


Abb. 53: SWV von 0,1 mM DA, HVA, AA bzw. UA in 0,1 M PhP an einer $Au_{1,0}$ -PEDOT-SPCE bei pH 7 (links oben), pH 5 (rechts oben) und pH 3 (links unten); SWV des Gemisches von je 0,1 mM DA, HVA, AA und UA in 0,1 M PhP der pH-Werte 7, 5 und 3 (rechts unten)

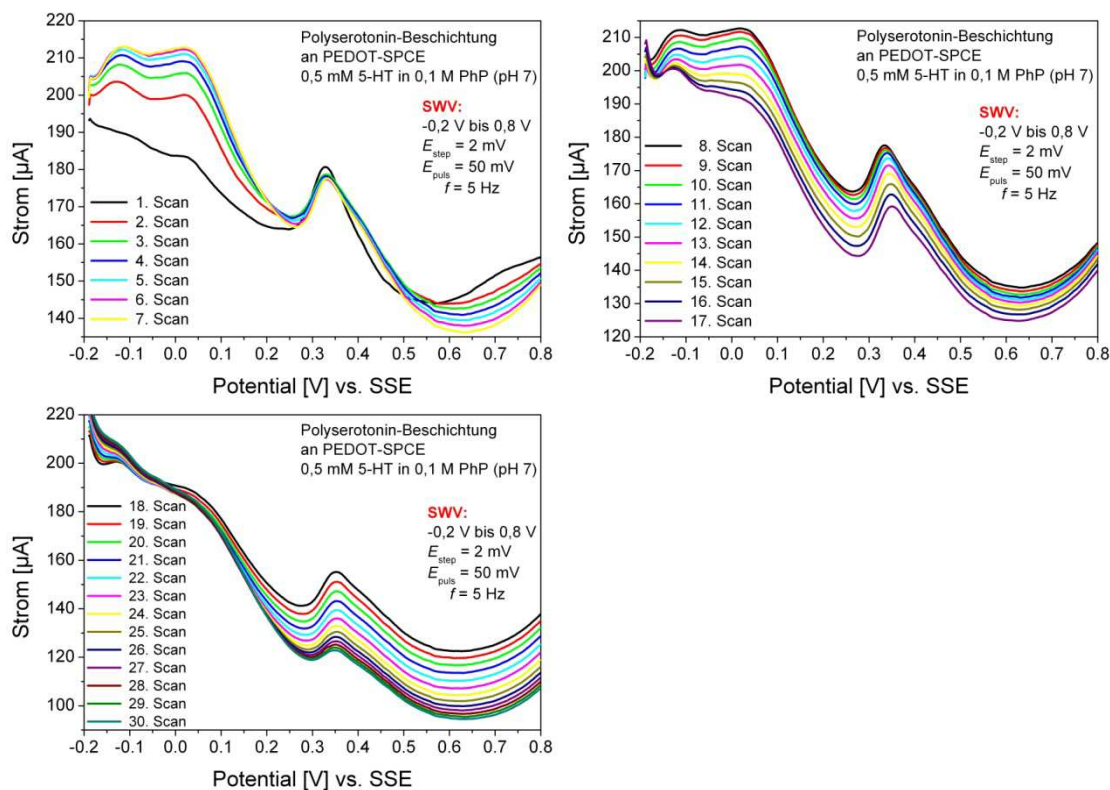


Abb. 54: Abscheidung eines Polyserotonin-Films auf eine PEDOT-SPCE aus einer gepufferten 0,5 mM Serotonin-Lösung durch SWV; oben links: 1. bis 7. Scan, oben rechts: 8. bis 17. Scan, unten: 18. bis 30. Scan

Messwerte der Kalibrierungskurven

Messwerte für SPCE

Tab. 14: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an SPCE in PhP (pH 7) ($E_{\text{pa}} = 194 \text{ mV}$)

c (DA) [μM]	I_{pa} [μA]
0,0	0,0000
1,0	0,1816
2,0	0,3553
3,0	0,5616
4,0	0,8204
5,0	0,9644

Tab. 15: Messwerte der Kalibrierungskurven der HVA-Messung an SPCE in PhP (pH 3) ($E_{\text{pa1}} = 439 \text{ mV}$, $E_{\text{pa2}} = 699 \text{ mV}$)

c (HVA) [μM]	I_{pa1} [μA]	I_{pa2} [μA]
0,0	0,0000	0,0000
3,3	0,0318	0,0266
6,6	0,1185	0,0618
9,9	0,2213	0,1129
13,2	0,3477	0,1575
16,5	0,4619	0,2166
19,8	0,5998	0,2357

23,1	0,7584	0,2948
26,4	0,8874	0,3298
29,6	1,0312	0,3746
32,9	1,1662	0,4080

Tab. 16: Messwerte der Kalibrierungskurven der HVA-Messung an SPCE im Modellanalyt (pH 3)
($E_{pa1} = 456 \text{ mV}$, $E_{pa2} = 708 \text{ mV}$)

c (HVA) [μM]	I_{pa1} [μA]	I_{pa2} [μA]
0,0	0,0000	0,0000
3,3	0,0039	0,0900
6,6	0,0181	0,1604
9,9	0,0324	0,2241
13,2	0,0533	0,3143
16,5	0,0847	0,3915
19,8	0,1351	0,4400
23,1	0,1844	0,5305
26,4	0,2434	0,6058
29,6	0,2984	0,6827
32,9	0,3621	0,7614

Messwerte für PyCE

Tab. 17: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an PyCE in PhP (pH 7) ($E_{pa} = 191 \text{ mV}$)

c (DA) [μM]	I_{pa} [μA]
0,0	0,0000
0,1	0,0020
0,2	0,0033
0,3	0,0037
0,4	0,0043
0,5	0,0051
0,6	0,0080
0,7	0,0114
0,8	0,0161
0,9	0,0183
1,0	0,0239
1,5	0,0398
2,0	0,0558
2,5	0,0689
3,0	0,0828
3,5	0,0950
4,0	0,1067
4,5	0,1187
5,0	0,1304
6,0	0,1500
7,0	0,1704
8,0	0,1896
9,0	0,2087
10,0	0,2272
15,0	0,3073
20,0	0,3775

Tab. 18: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an PyCE in PhP (pH 3) ($E_{pa1} = 438$ mV, $E_{pa2} = 750$ mV)

c (HVA) [μ M]	I_{pa1} [μ A]	I_{pa2} [μ A]
0,0	0,0000	0,0000
3,3	0,0000	0,0349
6,6	0,0058	0,0888
9,9	0,0146	0,1228
13,2	0,0244	0,1604
16,5	0,0314	0,1894
19,8	0,0400	0,2155
23,1	0,0478	0,2398
26,4	0,0550	0,2598
29,6	0,0604	0,2749
32,9	0,0664	0,2894

Messwerte für PEDOT-SPCE

Tab. 19: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 7) ($E_{pa} = 175$ mV)

c (DA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
0,1	0,0282
0,2	0,0679
0,3	0,1239
0,5	0,1696
1,0	0,2139
2,0	0,5335
3,0	0,8300
4,0	1,1090
5,0	1,4865
6,0	1,8830
7,0	2,2177
8,0	2,5348
9,0	2,8650
10,0	3,2463
15,0	5,1395
20,0	6,9300

Tab. 20: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an PEDOT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa} = 441$ mV)

c (HVA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
3,3	0,7492
6,6	2,4416
9,9	4,5180
13,2	7,5538
16,5	10,8845
19,8	13,4539
23,1	15,9245

26,4	18,0091
29,6	20,7972
32,9	23,1029

Tab. 21: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 3) ($E_{pa} = 442$ mV)

c (HVA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
3,3	0,0000
6,6	0,3538
9,9	1,1663
13,2	2,1683
16,5	3,4112
19,8	4,7265
23,1	6,1588
26,4	7,5464
29,6	9,0269
32,9	10,5798

Messwerte für Au-PEDOT-SPCE

Tab. 22: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an Au_{1,0}-PEDOT-SPCE in PhP (pH 7) ($E_{pa} = 177$ mV)

c (DA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
0,1	0,2106
0,2	0,3318
0,3	0,4954
0,4	0,7388
0,5	0,8774
0,6	1,0585
0,7	1,2932
0,8	1,5267
0,9	1,6216
1,0	1,7264
1,5	2,2808
2,0	2,8002
2,5	3,3315
3,0	3,9451
3,5	4,4198
4,0	5,0776
4,5	5,6396
5,0	6,0121
6,0	6,6288
7,0	7,3499
8,0	8,2437
9,0	9,0348
10,0	9,9657
15,0	12,7215
20,0	14,7234

Tab. 23: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an Au_{0,5}-PEDOT-SPCE in PhP (pH 7) ($E_{pa} = 177$ mV)

c (DA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
1,0	0,5723
2,0	1,4206
3,0	1,9748
4,0	2,6023
5,0	3,1478

Tab. 24: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an Au_{1,0}-PEDOT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa} = 405$ mV)

c (HVA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
3,3	0,2443
6,6	0,4957
9,9	0,9452
13,2	1,4350
16,5	2,0653
19,8	2,6485
23,1	3,3767
26,4	4,0023
29,6	4,7466
32,9	5,3523

Tab. 25: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an Au_{1,0}-PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 3) ($E_{pa} = 422$ mV)

c (HVA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
3,3	0,0000
6,6	0,0097
9,9	0,2107
13,2	0,5189
16,5	1,0151
19,8	1,5755
23,1	2,2666
26,4	2,9483
29,6	3,6404
32,9	4,4481

Messwerte für 5-HT-SPCE

Tab. 26: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an 5-HT-SPCE im Modellanalyt (pH 7) ($E_{pa} = 203$ mV)

c (DA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
0,1	0,0154
0,2	0,0361
0,3	0,0477

0,4	0,0673
0,5	0,0798
0,6	0,1220
0,7	0,1291
0,8	0,1381
0,9	0,1559
1,0	0,1650
1,5	0,2822
2,0	0,3719
2,5	0,4783
3,0	0,5729
3,5	0,6842
4,0	0,8053
4,5	0,9260
5,0	1,0182
6,0	1,5881
7,0	1,9594
8,0	2,1204
9,0	2,3472
10,0	2,6167

Tab. 27: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an 5-HT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa1} = 443 \text{ mV}$, $E_{pa2} = 686 \text{ mV}$)

$c \text{ (HVA)} [\mu\text{M}]$	$I_{pa1} [\mu\text{A}]$	$I_{pa2} [\mu\text{A}]$
0,0	0,0000	0,0000
3,3	0,0000	0,0203
6,6	0,0081	0,0558
9,9	0,0465	0,1035
13,2	0,1051	0,1435
16,5	0,1681	0,1866
19,8	0,2483	0,2221
23,1	0,3191	0,2682
26,4	0,4161	0,3069
29,6	0,5055	0,3437
32,9	0,6916	0,3883

Messwerte für 5-HT-PEDOT-SPCE

Tab. 28: Messwerte der Kalibrierungskurven der DA-Messung an 5-HT-PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 7) ($E_{pa} = 195 \text{ mV}$)

$c \text{ (DA)} [\mu\text{M}]$	$I_{pa} [\mu\text{A}]$
0,0	0,00
0,1	0,52
0,2	0,66
0,3	0,84
0,4	1,00
0,5	1,21
0,6	1,38
0,7	1,50
0,8	1,67

0,9	1,87
1,0	2,01
1,5	2,53
2,0	3,21
2,5	3,70
3,0	4,33
3,5	4,95
4,0	5,43
4,5	6,00
5,0	6,77
6,0	8,65
7,0	9,88
8,0	11,16
9,0	12,78
10,0	13,89

Tab. 29: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an 5-HT-PEDOT-SPCE in PhP (pH 3) ($E_{pa} = 449$ mV)

c (HVA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
3,3	0,0994
6,6	0,7691
9,9	1,9212
13,2	3,5850
16,5	5,0613
19,8	6,7999
23,1	8,6584
26,4	10,3827
29,6	12,3170
32,9	14,3901

Tab. 30: Messwerte der Kalibrierungsgeraden der HVA-Messung an 5-HT-PEDOT-SPCE im Modellanalyt (pH 3) ($E_{pa} = 453$ mV)

c (HVA) [μ M]	I_{pa} [μ A]
0,0	0,0000
3,3	0,0968
6,6	0,1498
9,9	0,6586
13,2	1,2249
16,5	1,8624
19,8	2,6177
23,1	3,5958
26,4	4,7068
29,6	5,7063
32,9	6,8925

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Mittweida, den 17.10.2012

Elisabeth Majer